Aus dem pharmakologischen Institut und der Klinik für kleinere Haustiere der Königl. Tierärztlichen Hochschule in Stuttgart.
(Vorstand: Professor Dr. Uebele)

Untersuchung über innere Antisepsis durch HETRALIN,

ein neues Hexamethylentetraminderivat.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde,

der

Hohen Medizinischen Fakultät der

Grossherzoglich Hessischen Ludwigs-Universität in Giessen

vorgelegt von

Wilhelm Fries,

approb. Tierarzt aus Wertheim am Main.

Hamburg 1906.
Gedruckt bei C. L. Küncke Söhne.

Gedruckt mit Genehmigung der vereinigten medizinischen Fakultät zu Giessen.

Referent: Prof. Dr. Geppert.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit gewidmet.

Der Verfasser.

Gedruckt mit Genehmigung der vereinigten medizinischen Fakultät zu Giessen.

Referent: Prof. Dr. Geppert.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit gewidmet.

Der Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154004_0257

Seitdem Nicolaier (1) im Jahre 1895 das Urotropin zur Behandlung der bakteriellen Erkrankungen der Harnwege und der harnsauren Diathese in die Therapie eingeführt hat und man den Wert des Formaldehyds für die innere Desinfektion durch zahlreiche experimentelle und klinische Beobachtungen immer mehr schätzen lernte, sind auch in der pharmazeutischen Industrie eine Reihe von Urotropinderivaten entstanden, welche als Ersatzmittel des Urotropins selbst oder anderer Medikamente gelten sollten. So wurden bereits folgende Urotropinderivate in der Therapie angewandt: das salicylsaure Urotropin (Schering) oder Saliformin (Merck) und das weinsaure Urotropin (Schering), beide als Ersatzmittel des Urotropins; das Tannopin (Bayer), eine Verbindung von Tannin und Urotropin; das Jodoform-Urotropin (Jodoformin) und das Jodoformal (ein Additionsprodukt des Jodäthylurotropins und des Jodoforms), beide als Ersatz für das Jodoform; ferner Jodäthylurotropin, Bromäthylurotropin u. a. (2).

So sehr sich auch das Urotropin in zahlreichen Fällen bewährt hat, so reichte doch in stark alkalischem und ammoniakalischem Harn seine Formaldehydwirkung nicht aus, zumal man die geringe Abspaltung von Formaldehyd der leicht auftretenden Nebenerscheinungen halber durch höhere Dosierung nicht vermehren konnte. In der Absicht, die bei grösseren Urotropin-Dosen auftretenden Nebenerscheinungen wie lästigen Stuhldrang, Dysurie und Hämaturie zu beseitigen und andererseits ein Präparat zu erhalten, das auch in alkalischen Flüssigkeiten reichlich Formaldehyd abspaltet und so die Desinfektionskraft erhöht, entstanden zwei weitere Urotropinderivate, das Helmitol (Bayer) oder Neu-Urotropin (Schering), eine Verbindung des Urotropins mit der Anhydromethylencitronensäure, und das Hetralin, eine Kombination von Hexamethylentetramin und Resorcin.

Das Hetralin wird von der Firma: Chas. Zimmermann & Co., Hamburg, als Pulver oder in Form von Tabletten à 0.5 g

in den Handel gebracht. In der kurzen Zeit, seit welcher das Hetralin in die Therapie eingeführt ist, hat es sich die Anerkennung hervorragender Aerzte verdient und sich als ein vorzügliches Mittel bei bakteriellen Erkrankungen der Harnwege, bei harnsaurer Diathese und bei Phosphaturie erwiesen. Daher lauten die Urteile, welche bereits in grosser Anzahl über Hetralin vorliegen, sehr günstig.

So urteilt Ledermann (3) über Hetralin, das er bei akuter und chronischer gonorrhoischer Cystitis anwendete, dass es Urotropin und Helmitol in ihrer Wirkung nicht nur erreichen, sondern sie in mancher Beziehung, wie bei Behandlung gonorrhoischer Affektionen der hinteren Harnröhre, zu übertreffen scheine. Gelegentlich habe zwar Hetralin wie auch andere bewährte Mittel versagt, in anderen Fällen sei ein Erfolg bei gleichzeitiger lokaler Behandlung erzielt worden oder auch ein Rückschlag nach anfänglicher Besserung eingetreten. «Es muss, fährt Ledermann (3) fort, wie bei allen Trippermitteln, der persönliche Eindruck, den ein jeder Therapeut von der Wirksamkeit eines Mittels und seiner Ueberlegenheit vor anderen Mitteln gewinnt, in Frage kommen, und dieser Eindruck ist bei dem Hetralin ein hervorragend günstiger.» In gleicher Weise hatte Lohnstein (4) bei akuter Urethritis gonorrhoica posterior teilweise sehr rasche Erfolge erzielt und komplizierte Fälle von Cystitis und Pyelitis, sowie Fälle von chronischer Cystitis zur Besserung und Heilung gebracht. Auch bei Phosphaturie hatte er das Präparat angewandt, um den Säuregehalt des Urins zu erhöhen und die subjectiven Schmerzen am Schlusse der Urinentleerung zum Verschwinden zu bringen. Hetralin hatte sich auch hier selbst in Fällen, wo bewährte Arzneimittel versagten, gut bewährt und Lohnstein (4) kommt auf Grund seiner Beobachtungen zu dem Ergebnis, «dass Hetralin ein sehr wirksames Harndesinfiziens darstellt, welches besonders bei infektiösen Katarrhen des Urogenitaltractus, wie bei Phosphaturie indiziert ist.» Groen (5) stellte mit Helmitol und Hetralin Parallelversuche an und beweist an der Hand von klinischen Fällen die vortreffliche Wirkung des Hetralins bei Cystitis und Dysurie, nachdem teilweise erfolglos andere innere Harndesinficientien angewandt worden waren. Goldberg (6) zieht Hetralin in Vergleich mit Urotropin und Helmitol. Er prüft alle drei auf ihren kolyseptischen oder antiseptischen Effekt im Harn, dar-

nach auf etwaige Nebenwirkungen und stellt seine mit Hetralin gemachten günstigen Erfahrungen denjenigen, welche über Urotropin und Helmitol mitgeteilt sind, gegenüber. Die entwicklungshemmende Wirkung des Hetralinharns auf Mikroorganismen, das Fehlen von besonderen Nebenerscheinungen bei internem Hetralingebrauch und die therapeutischen Erfolge bei den verschiedensten Arten von Cystitis, bei Phosphaturie und einem Fall von chronischer Blasen- und Nierentuberkulose lassen Goldberg (6) am Schlusse seiner Arbeit aussprechen «dass Hetralin ein brauchbares Harnantiseptikum ist und besonders da Anwendung verdient, wo trotz geeigneter sonstiger Behandlung Urotropin im Stiche liess».

Euler-Rolle (7) bekämpfte ebenso erfolgreich mit Hetralin die verschiedensten Fälle von Cystitis infolge Prostatahypertrophie, nach Gonorrhoe, nach instrumentellen Eingriffen im Bereich der Genitalorgane und bei der ammonikalischen Harngährung, und es scheint daher nach seiner Ansicht das Hetralin eines jener wenigen Präparate zu sein, welche sich einen dauernden Platz in der Therapie der Erkrankungen der Harnwege erringen werden.

Auf die erfolgreiche Behandlung der typhösen Bakteriurie mit Hetralin hat zuerst Helfer (8) hingewiesen, und später haben es Ebstein (9) und Levy (10) bestätigt. Bei einer Tagesgabe von 3 g war der Harn schon nach 3 bis 7 Tagen wieder klar, eiweissfrei und steril. Bei der grossen Bedeutung, welche nach den neueren Forschungen der Typhusharn als Infektions- und Reinfektions-Quelle besitzt, schlägt Helfer (8) neben der sofortigen Desinfektion des entleerten Urins auch eine Desinfektion des Harns durch innerliche Antiseptis vor und empfiehlt, Typhuskranken nach Ablauf der akuten Erscheinungen oder spätestens im Rekonvaleszenzstadium stets Hetralin in Tagesdosen von 2 g aus prophylaktischen Gründen zu verabreichen. Auch bei der harnsauren Diathese hatte Helfer (8) in vier unter sechs Fällen einen eklatanten Erfolg zu verzeichnen. Aus seinen Erfahrungen mit Hetralin konnte Helfer (8) die Behauptung aufstellen, «dass es in der Therapie der posttyphösen Cystitis von unstreitbarem Werte ist und dass es in der Behandlung der harnsauren Diathese einen ernsten Versuch verdient».

Fraenkel (11) berichtet über eine erfolgreiche Behandlung von 40 bis 50 Fällen akuter und chronischer Cystitis und Pyelitis

mit Hetralin ohne gleichzeitige lokale Theraphie; aus dieser Zahl von Krankenbeobachtungen will er zwar noch keinen Schluss auf den therapeutischen Wert des Hetralins ziehen, doch bemerkt er ausdrücklich, dass die Reihe der mitgeteilten Krankengeschichten so gross ist, dass Irrtümer in der Behandlung wohl ausgeschlossen sind. Von Riegner (12) werden die Erfahrungen mitgeteilt, welche man in den beiden inneren Abteilungen des städtischen Krankenhauses am Urban in Berlin mit dem Hetralin machte. Man prüfte das Hetralin in solchen Fällen, wo man sonst Urotropin angewandt hätte, oder wo man es eine Zeit lang angewandt hatte, also bei Cystitis. Hier hat sich Hetralin als ein gutes Harnantiseptikum bewährt, indem der Harn innerhalb kurzer Zeit nach Hetralin-Gebrauch dauernd klar wurde und seinen üblen Geruch und die Alkalescenz verlor. Bei Rückenmarkserkrankungen und anderen Leiden, wo Störungen in der Urinentleerung bestehen, wurde Hetralin gewissermassen prophylaktisch gegeben, um die Zersetzung des Harns hintanzuhalten und das Entstehen einer Cystitis zu verhindern, Ein zweifelloser Erfolg wurde auch in einem Falle von Phosphaturie erzielt, wo nach Hetralingebrauch das dicke Phosphatsediment prompt verschwand und die lästigen Blasenbeschwerden bei der Urinentleerung schnell abnahmen. Riegner (12) glaubt, sein Urteil über den therapeutischen Wert des Hetralins dahin zusammenfassen zu können, dass er ihn bei Behandlung und Prophylaxe der Cystitis demjenigen des Urotropins an die Seite stellt; «nur bei Phosphaturie dürfte vielleicht das Hetralin das Urotropin übertreffen».

Die gleichen Erfahrungen mit Hetralin wurden nach den Mitteilungen von Ebstein (9) an der inneren Abteilung des städtischen Krankenhauses am Friedrichshain in Berlin gemacht. Es wurden in oft überraschend kurzer Zeit die objektiven und subjektiven Erscheinungen der akuten und chronischen Cystitis gebessert oder beseitigt. Auch Ebstein (9) kann daher wie Riegner (12) das Hetralin in allen Fällen, wo das Urotropin im Stich lässt, als Harnantiseptikum warm empfehlen. Als ein Vorteil des Hetralins gegenüber dem Urotropin ist es jedoch anzusehen, dass ersteres nach Beider Mitteilung von den Kranken wochenlang gut ertragen wurde und niemals eine unerwünschte Nebenwirkung auftrat.

Caleya y del Amo (13) fand ebenfalls auf Grund vergleichender Untersuchungen über den therapeutischen Wert des

Urotropins und Hetralins, dass Hetralin, «eine sehr viel grössere antiseptische und lindernde Wirkung hervorbringt als das Urotropin».

Die Tagesdosis des Hetralins beträgt nach den Angaben genannter Autoren 1,5 bis 3 g; gewöhnlich wurde es in Tablettenform à 0,5 g drei- bis viermal täglich mit gutem Erfolge verabreicht; in manchen Fällen wurden auch 4 g und 5 g pro kg ohne schädliche Nebenwirkungen gegeben.

Die Urteile genannter Aerzte sind gestützt auf ein ziemlich grosses klinisches Beweismaterial und beziehen sich zumeist auf den therapeutischen Wert des Hetralins; dagegen finden sich in den über Hetralin bisher veröffentlichten Arbeiten über dessen pharmakologische Eigenschaften und die Art und Weise, wie das Mittel therapeutisch wirksam wird, nur geringe Angaben. In der Tiermedizin hat das Hetralin, soweit dies aus der Literatur zu ersehen ist, noch keinen Eingang gefunden. Herr Professor Dr. Uebele an der Königl. Tierärztlichen Hochschule in Stuttgart, der sich seit langer Zeit mit experimentellen Untersuchungen über «Innere Desinfektion» beschäftigt, gab mir daher die Anregung, nach einem von ihm angegebenen Untersuchungsmodus die Bedingungen und den antiseptischen Wert der Formaldehydabspaltung aus Hetralin einer genaueren Prüfung zu unterziehen.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Uebele dafür, sowie für die mir dabei zuteil gewordene Unterstützung und die bereitwillige Ueberlassung des Versuchsmaterials bestens zu danken.

Das Präparat und die einschlägige Literatur wurden mir von Chas. Zimmermann & Co., Hamburg, zur Verfügung gestellt, wofür ich der Firma auch an dieser Stelle meinen besten Dank aussprechen möchte.

Der Inhalt meiner hier niedergelegten Untersuchungen und der dabei eingeschlagene Untersuchungsgang sei in nachstehendem

Inhaltsverzeichnis

angeführt:

Seite

I. Physikalische und chemische Eigenschaften des Hetralins. 1—3

II. Verhalten der Formaldehydabspaltung in besonders hergestellten Hetralinlösungen bei verschiedenen Reaktionen des Substrates und bei verschiedenen Temparaturgraden:
   1. chemische Untersuchung . . . . . 4—16
   2. bakteriologische Untersuchung . . . . . 16—21

III. Chemisch-physiologisches Verhalten von Resorcin und Formaldehyd nach Aufnahme des Hetralins in den Tierkörper:
   1. Versuche zum Nachweis des Resorcins im Harn 22—32
   2. Versuche zum Nachweis des Resorcins im Blut 33
   3. Versuche zum Nachweis des Resorcins im Kot 33—34
   4. Ueber das erste Auftreten von Formaldehyd, die Stärke und Dauer seiner Ausscheidung im alkalischen und sauren Harn nach Hetralingaben per os 34—48
   5. Nachweis von Formaldehyd im Kot 48
   6. Nachweis von Formaldehyd in der Milch . . 48—50
   7. Verhalten des Formaldehyds im Blut . . . . 50—53
   8. Verhalten des Formaldehyds in Ascitesflüssigkeit 54—57
   9. Verhalten des Formaldehyds in Organen . . 57—60

IV. Feststellung des kolyseptischen und antiseptischen Wertes von Hetralin und seinen Komponenten Resorcin und Hexamethylentetramin in alkalischen, neutralen und sauren Nährmedien.
   1. Hetralin, Resorcin und Urotropin in alkalischer Bouillon . . . . . 60—64
   2. in neutraler Bouillon . . . . . 64—67
   3. in angesäuerter Bouillon . . . . . 67—70
   4. in Ascitesflüssigkeit . . . . . 70—74
   5. in alkalischem Harn . . . . . 75—78
   6. in saurem Harn . . . . . 78—83

Seite

V. Festsellung des kolyseptischen und antiseptischen Wertes des nach internem Hetralingebrauch im Harn ausgeschiedenen Formaldehyds rücksichtlich seiner Beeinflussung des Wachstums von Bacterium pyocyaneum und Bacterien der ammoniakalischen Harngährung . . . . . 84—92

VI. Feststellung der Reaktionen des Tierkörpers auf verschieden hohe Dosen von Hetralin nach Abgabe per os 92—97

I. Physikalische und chemische Eigenschaften des Hetralins.

Das Hetralin stellt nach den übereinstimmenden Angaben von Ledermann (3), Lohnstein (4), Goldberg (6), Euler-Rolle (7), Fraenkel (11), welche die ersten Veröffentlichungen über Wirkung und Anwendung des Hetralins gemacht haben, einen schneeweissen, nadelförmig krystallisierenden Körper dar, welcher äusserst luftbeständig ist und beim Erhitzen im Schmelzröhrchen sich erst bei einer Temparatur von über 160° C. zersetzt. Es besitzt einen stark süsslichen, nicht unangenehmen Geschmack. Nach Goldberg (6) jedoch soll es leicht säuerlich schmecken und geruchlos sein. Das Präparat soll ferner nach genannten Autoren leicht löslich sein in Alkohol und Wasser, und zwar in heissem Wasser im Verhältnis 1 : 4, in kaltem im Verhältnis 1 : 14. Mit Rücksicht auf seine chemische Zusammensetzung wird es als ein Derivat des Hexamethylentetramins beschrieben, das nach Ledermann (3) einen Gehalt von 60% Hexamethylentetramin besitzt.

Zernik (14) endlich hat das Präparat einer genaueren chemischen Prüfung unterzogen; nach seiner Analyse hat Hetralin die Zusammensetzung $C_6 H_{12} N_4 \cdot C_6 H_6 O_2$ mit einem Gehalt von 56,03% Urotropin. Er bezeichnet Hetralin als Resorcino-Hexamethylentetraminum und schlägt zu dessen Charakteristik folgende Fassung vor. «Farblose Krystallnadeln von süssem Geschmack und kreosotartigem Geruch, in etwa 14 Teilen kaltem und in 4 Teilen heissem Wasser löslich, schwer löslich in Alkohol und in Chloroform, sehr schwer löslich in Aether. Aus der wässrigen Lösung (1 : 19) fällt Bleiessig einen weissen Niederschlag aus. Beim vorsichtigen Erwärmen von 0,1 g Hetralin mit 3 ccm Natronlauge und 3 Tropfen Chloroform färbt sich die Flüssigkeit intensiv rot. Beim

Kochen von 2 ccm der wässrigen Lösung mit 1 ccm verdünnter Schwefelsäure tritt der stechende Geruch nach Formaldehyd auf; auf Zusatz von überschüssiger Natronlauge und erneutes Erhitzen entweicht Ammoniak, und die Flüssigkeit färbt sich rot. Die mit 5 ccm verdünnter Schwefelsäure versetzte Flüssigkeit von 0,5 g Hetralin in 15 ccm Wasser wurde 3 mal mit je 10 ccm Aether ausgeschüttelt. Beim Verdunsten des Aethers sollen 0,22 g trockenes Resorcin hinterbleiben. Vor Licht geschützt aufzubewahren!»

Bei der Nachprüfung dieser Verhältnisse fand sich zunächst, dass das mir von «Chas. Zimmermann & Co., Hamburg,» bereitwilligst zur Verfügung gestellte Hetralin in den angegebenen Verhältnissen keine klare Lösung giebt, vielmehr unter leichtem Aufbrausen grauweisse feine Flocken suspendiert behält, die sich teilweise zu grösseren zusammenballend, nach etwa 24 Stunden am Boden z. T. niedergesetzt und hellbraune Farbe angenommen haben. Die Lösung selbst dunkelt nach dieser Zeit je nach der Konzentration mehr oder weniger stark nach.

Bezüglich der Prüfung der Luftbeständigkeit des Hetralins war es mir möglich, in einer sechs Wochen lang offen der Luft ausgesetzten Probe nach dieser Zeit in ihrer wässrigen Lösung Resorcin und Formaldehyd nachzuweisen.

Die von Zernik (14) angegebene chemische Prüfung auf Hetralin genügte jedoch nicht meiner Aufgabe, Resorcin und Formaldehyd in kleinster Menge, wie sie nach Aufnahme von Hetralin in therapeutischer Dosis vom Tierkörper wieder ausgeschieden werden muss, in künstlichen und natürlichen Lösungen nachzuweisen; sie ist nur für eine grobe, chemische Untersuchung brauchbar.

In künstlichen Lösungen von Hetralin gelang mir der direkte Nachweis des Resorcins mit folgenden Reaktionen:

1. Durch Erhitzen mit Natronlauge und etwas Chloroform entsteht noch bei einer Verdünnung von 1 : 8000 leichte Rotfärbung.
2. Ein einfallender Tropfen Chlorkalklösung bewirkt Violettfärbung, die bald verschwindet.
3. Durch Bromwasser entsteht eine doppelte Fällung, nämlich von Tribromresorcin einerseits und Urotropindibromid und Urotropintetrabromid andererseits.

Am schönsten sind diese Verhältnisse an einer 1 % wässerigen Hetralinlösung zu ersehen. Hier scheiden sich in der anfänglichen

diffusgelben Fällung nach einigem Stehen an der Oberfläche nadelförmige, seidenglänzende Kristalle von Tribromresorcin ab, mit braunroter Farbe in Ammoniak löslich, während am Boden ein orangegelber Niederschlag aus Urotropindibromid und Tetrabromid sich angesetzt hat mit denselben Eigenschaften, wie sie Nicolaier (1) beim Urotropin beschrieben hat.

Löst man die entstehende gelbe Fällung oder den darnach sich bildenden orangegelben Niederschlag mit wenig Ammoniak auf, so bildet sich nach einiger Zeit aus der zuerst rotbraunen, bei schwächeren Konzentrationen bereits hellgrüngelblichen Lösung je nach dem Hetralingebrauch eine dunkelgrüne bis hellgrüne, klare Lösung bis zu einer Verdünnung von 1 : 800, ein Beweis für das Vorhandensein von Resorcin. Von 1 : 1000 ab entsteht nach Ammoniakzusatz eine hellgrünlich gelbe bis hellgelbe klare Lösung. Bromwasser bringt noch bei einer Konzentration von 1 : 25000 schwache Trübung hervor. Bei 1 : 30000 fällt die Reaktion negativ aus.

In zweiter Linie gelingt der Nachweis des Resorcins in künstlichen Hetralinlösungen nach dem Ausschütteln der Lösung mit Aether und Aufnahme des Aetherverdunstungsrückstandes im Wasser mittels der bekannten Resorcinreaktionen.

Dagegen war es mir nicht möglich, nach Aufnahme von Hetralin in den Tierkörper mit einer dieser Methoden weder freies noch gebundenes Resorcin nachzuweisen. (S. III. 1,2 und 3).

Neben dem Nachweis von Resorcin erschien es mir von grösserer Wichtigkeit den Nachweis des aus dem Urotropin sich abspaltenden Formaldehyds erbringen zu können.

Der Umstand jedoch, dass bei frisch bereiteten, wässerigen Hetralinlösungen wie beim Urotropin die zuverlässigste Reaktion auf Formaldehyd, die nach Jorissen, negativ ausfiel, während sie in den mit Aether ausgeschüttelten Lösungen positiv war, veranlasste mich zu nachfolgenden Untersuchungen.

II. Verhalten der Formaldehydabspaltung in künstlichen Hetralinlösungen bei verschiedener Reaktion des Substrates und bei verschiedenen Temparaturgraden durch chemische und bakteriologische Untersuchungen.

1. Chemische Untersuchungen.

Für den Nachweis von freiem oder gebundenem Formaldehyd fand ich hier folgende Reaktionen für geeignet:

I. Jorissen'sche Reaktion (15); sie wurde in folgender Weise ausgeführt:

Zu 10 ccm Hetralinlösung setzte ich 2 ccm einer 0,1 % wässerigen Phloroglucinlösung und 1 ccm einer 10 %igen Kalilauge, beide mit einer Pipette genau abgemessen, um bei der stets auf diese Weise ausgeführten Reaktion aus der Intensität der auftretenden hellrosaroten bis pfirsichroten Färbung der Probe einen genauen Rückschluss auf deren grösseren oder geringeren Formaldehydgehalt schliessen zu können.

Diese Reaktion hat sich mir überall als die beste und zuverlässigste erwiesen.

Nicolaier (1) empfiehlt den Zusatz von Phloroglucin in Substanz; diese Modifikation erzeugte zuweilen stärkere Reaktion, dagegen konnte ich in dem ebenfalls von Nicolaier (1) vorgeschlagenen Ausschütteln des Harns mit Tierkohle keine besonderen Vorteile erblicken.

Bei Vorhandensein von freiem Formaldehyd trat die Reaktion sofort und scharf ein, bei gebundenem Formaldehyd dagegen schwächer und erst nach mehreren Minuten. Die Rotfärbung verschwand je nach der Grösse des Formaldehydgehaltes und

seiner allmählichen Abscheidung durch die Einwirkung der Kalilauge nach einigen Minuten bis mehreren Stunden.

Nach Nicolaiers (41) Ansicht sind für den Nachweis von freiem Formaldehyd alle Reaktionen ungeeignet, bei welchen Kalilauge zur Anwendung gelangt, weil unter dem Einfluss der Laugen der Formaldehyd in den Lösungen freigemacht werde. Für den Nachweis freien Formaldehyds eigne sich daher allein die folgende Reaktion:

2. Die saure Phenylhydrazinprobe, wie sie von E. Rimini (16) zuerst eingeführt und von C. Arnold und C. Mentzel (17) etwas modifiziert wurde, führte ich in der Weise aus, dass ich zu der Lösung (5 ccm) einige Zentigramm salzsauren Phenylhadrazins in Substanz zusetzte, darauf 4 Tropfen Eisenchloridlösung und unter Abkühlung 8 bis 10 Tropfen konz. Schwefelsäure. Es muss bei Vorhandensein freien Formaldehyds die kirschrote bis dunkelpurpurrote Färbung sofort eintreten.

3. Die Ferricyankaliumprobe (16 und 18). Zu der zu untersuchenden Flüssigkeit setzte ich eine erbsengrosse Menge festen Phenylhydrazinchlorhydrats, nach der Lösung desselben 3 bis 4 Tropfen 10% Ferricyankaliumlösung und einige Tropfen einer 15 % Kalilauge. Ist freier Formaldehyd vorhanden, so entsteht sofort eine scharlach- oder ziegelrote bis kirschrote, sich tagelang haltende Färbung; bei Vorhandensein von gebundenem Formaldehyd ist die Lösung zuerst nur orange oder leicht zinnober, um innerhalb 15—60 Minuten eine stark zinnoberrote Färbung in dem Maasse anzunehmen, wie das Alkali der Formaldehyd abspaltet. In diesem letzteren Falle jedoch ist die Reaktion nicht mehr einwandsfrei, weil normaler Harn von Mensch und Hund nach meinen Beobachtungen oft vermöge seiner reduzierenden Substanzen dieselben Farbentöne hervorbringt.

4. Die Nitroprussidprobe (18) wurde in der gleichen Weise wie vorstehende Reaktion ausgeführt, nur wurde das Ferricyankalium durch 10% Natriumnitroprussidlösung ersetzt. Ist freier Formaldehyd zugegen, so entsteht sofort beim vorsichtigen Zusetzen der Kalilauge eine grüne, blaugrüne, blaue oder grünlichbraune Färbung in formaldehydhaltiger wässriger Lösung oder Menschenharn, sowie bei starkem Formaldehydgehalt des Hundeharns; bei mittlerem oder geringerem Formaldehydgehalt aber zeigt Hundeharn die rotbraune Farbe der Legal'schen Re-

aktion (19). Bei Vorhandensein von gebundenem Formaldehyd bleibt die Nitroprussidprobe vollständig negativ. Die Legal'sche Reaktion tritt auch ein in normalem Harn von Hunden und von Menschen und zwar mit oder ohne Zusatz von Phenylhydrazinchlorhydrat. Die rotbraune Farbe der Legal'schen Reaktion ist daher nicht mehr beweisend für das Vorhandensein von Formaldehyd im Harn.

Ich habe in vielen Harnen auch die Reaktion nach Lebbin (20) und Bayer-Tollens (21) angewandt: doch fand ich sie wie Nicolaier (1) nicht scharf genug und auch nicht sicher, weil auch normale Harne ähnliche Reaktionen geben, und möchte sie nicht den vier erwähnten Reaktionen vorziehen.

Um festzustellen, mit welcher Intensität diese Reaktionen bei den verschiedenen Konzentrationsgraden eintreten und wann bei ihnen die Nachweisbarkeit des Formaldehyds aufhört, stellte ich in meinem eigenen sauren Harn verschiedene Konzentrationen mit Formaldehydum solutum her.

Dabei ging ich von der Annahme aus, dass drei Gewichtsteile Formol oder Formalin einem Gewichtsteil Formaldehyd entsprechen sollen, und stellte die Verdünnungen derart her, dass ich bei den Konzentrationsgraden 1 : 100 bis 1 : 1000 aus einer Stammlösung, 1 Formaldehyd : 10 Aq. dest. = 3 Formol zu 7 Wasser, bei den Konzentrationsgraden 1 : 1000 bis 1 : 10 000 aus einer Stammlösung 1 : 100 usw. zu je 10 ccm Harn 1,0, 0,5, 0,25 usw. der jeweiligen Stammlösung zusetzte.

Die Farbentöne habe ich mittels Raddés Internationaler Farbenskala (22) festgestellt und gegenseitig verglichen.

Diese Farbenskala besitzt 24 Gammen mit ca. 900 Tönen. Jede Hauptfarbe hat einen Kardinalton und in den nächsten zwei Gammen den 1. und 2. Uebergang zur nächsten Hauptfarbe. Jede dieser drei Farbentonarten ist in 21 Farbentöne eingeteilt, die in alphabetischer Reihenfolge angeordnet sich abstufen.

In nachstehender Tabelle 1 sind die verschiedenen Formaldehydkonzentrationen nach Jorissen untersucht und die jeweiligen Farbentöne aufgezeichnet. Der Harn selbst zeigte den Farbenton 7 gelb 7 // u.

TABELLE 1.

Verhalten der Jorissen'schen Reaktion in formaldehydhaltigem, menschlichen Harn.

Konzentration	In 10 ccm Harn sind g		Phloroglucinprobe
	Formaldehyd	Formol	
1 : 100	0,1	0,3	7 Gelb 7 // t
1 : 200	0,05	0,15	6 Orange 6 // s
1 : 400	0,025	0,075	6 Orange 6 // r
1 : 500	0,02	0,06	6 Orange 6 // q
1 : 600	0,0165	0,0495	5 Orange 5 // q
1 : 700	0,0143	0,0429	5 Orange 5 // p
1 : 800	0,0125	0,0375	5 Orange 5 // o
1 : 1000	0,01	0,03	4 Orange 4 // n
1 : 2000	0,005	0,015	3 Zinnober 3 // m
1 : 4000	0,0025	0,0075	3 Zinnober 3 // n
1 : 8000	0,00125	0,00375	3 Zinnober 3 // o
1 : 10000	0,001	0,003	3 Zinnober 3 // p
1 : 11000	0,0009	0,0018	3 Zinnober 3 // p
1 : 12000	0,00083	0,00249	3 Zinnober 3 // q
1 : 14000	0,0007	0,0021	3 Zinnober 3 // q
1 : 16000	0,00063	0,00189	4 Orange 4 // q
1 : 18000	0,00058	0,00174	4 Orange 4 // q
1 : 19000	0,00057	0,00171	5 Orange 5 // p
1 : 20000	0,0005	0,0015	5 Orange 5 // q
1 : 25000	0,0004	0,0012	5 Orange 5 // r
1 : 30000	0,0003	0,0009	6 Orange 6 // q
1 : 35000	0,00028	0,00084	6 Orange 6 // s
1 : 40000	0,00025	0,00075	6 Orange 6 // s
1 : 50000	0,0002	0,0006	6 Orange 6 // t
1 : 60000	0,000165	0,000495	Grenze der Reaktion
1 : 80000	0,000125	0,000375	Keine Reaktion
1 : 100000	0,0001	0,0003	

Die Tabelle 1 zeigt uns, dass hier die Jorissen'sche Reaktion erst typisch wird bei einer Verdünnung von mehr als 1 : 1000; bei 1 : 2000 trat der Farbenton sofort und am deutlichsten ein. Bei schwächeren Verdünnungen, also von 1 : 1000 ab, wird der Farbenton undeutlicher, weil er mit der Abnahme der Verdünnung also mit dem höheren Formaldehydgehalt der Probe mehr in gelb übergeht. Wir können von 1 : 1000 an abwärts schön verfolgen, wie der Farbenton von 3 Zinnober, dem 2. Uebergang nach Orange, in 4 Orange übergeht, dann in Orange sich in den Uebergängen nach gelb bewegt, bis er bei 1 : 100 in gelb angelangt ist, somit beinahe den Farbenton des Harns erreicht hat.

Am Deutlichsten tritt nach der Tabelle 1 die Jorissen'sche Reaktion ein zwischen den Konzentrationen 1 : 2000 bis 1 : 14000; sie tritt hier auch am Raschesten, d. h. sofort auf und verschwindet, am Lichte stehend, nach $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde gänzlich.

Bei noch stärkeren Verdünnungen macht der Farbenton von 3 Zinnober wieder die gleichen Uebergänge in Orange bis Gelb durch. Bei 1 : 60000 ist kaum mehr eine Reaktion in der Harnprobe zu erreichen; bei 1 : 80000 fällt die Reaktion völlig negativ aus.

Die Tabelle 1 zeigt somit die wichtige Tatsache, dass bei einem grösseren Gehalt der zu untersuchenden Flüssigkeit an Formaldehyd (0,1 g bis 0,01 g) die Jorissen'sche Reaktion nicht entsprechend deutlicher, sondern schwächer ist als bei einem geringeren Formaldehydgehalt von 0,005 bis 0,0007 g. Wir haben jedoch bei der Formaldehydabspaltung aus dem Hetralin im Tierkörper garnicht mit so grossem Formaldehydgehalt zu rechnen, sodass die Reaktion ohne Rücksicht darauf gebraucht werden kann.

In gleicher Weise wurden die drei übrigen Reaktionen im Harn ausgeführt; sie ergeben weit intensivere Farbentöne, die sich aber nicht so fein abstufen, wie die bei der Jorissen'schen Reaktion.

Die Grenze der Reaktion wird erreicht bei der sauren Phenylhydrazinprobe mit einer Konzentration von 1 : 90000 (30 Carmin 30 // h), bei 1 : 100000 ist die Reaktion mit dem Farbenton 3 Zinnober 3 // i (hellbraun) negativ.

Die Ferricyankaliumprobe zeigt bei stärkerem Formaldehydgehalt sofort carminroten Farbenton; bei geringem Formal-

dehydgehalt wie bei 1 : 40 000 bis 1 : 90 000 setzt die Reaktion ein mit 3 Zinnober 3 // m und n oder schliesslich 5 Orange 5 // p, um innerhalb 20—30 Minuten in 30 Carmin 30 // k, oder 1 Zinnober 1 // l, oder in 2 // n überzugehen. Bei 1 : 100 000 fiel auch hier die Reaktion negativ aus.

Die Nitroprussidprobe zeigte bei der Konzentration 1 : 50 000 noch dunkelblaue Farbe (20 // c—d), bei geringerem Formaldehydgehalt trat die rotbraune Farbe der Legal'schen Reaktion ein.

Keine dieser vier Reaktionen lieferte in frisch bereiteten Hetralinlösungen (mit Wasser, Harn oder Ascites) ein positives Ergebnis: nur die saure Phenylhydrazin- und die Ferricyankaliumprobe zeigte nach einiger Zeit deutliche Rotfärbung; es musste hier durch die zugesetzte H_2 SO_4 und K (OH) Formaldehyd abgespalten worden sein. Die Nitroprussidprobe ergab stets Legal. Reaktion.

Nachfolgende Untersuchungen sollen einen Aufschluss über die Bedingungen der Formaldehydabspaltung aus Hetralinlösungen geben.

I.

Von einer Lösung aus 1,5 g Hetralin und 150 ccm Aqua destill. wird die eine Hälfte (Probe II) mit 0,03 g KH_2 P_4O (60% Kaliummonophosphat) und 0,02 g Na_2 PO_4 (40% Natriumdiphosphat) versetzt; sie besitzt saure Reaktion.

Die andere Hälfte (Probe I) bleibt ohne Zusatz phosphorsaurer Salze; sie reagiert schwach alkalisch.

Von jeder dieser Proben werden je 25 ccm

a. vor dem Fenster bei 2—4° C.
b. im Zimmer bei 16—18° C.
c. im Brutschrank bei 37° C.

12 Stunden lang aufgestellt, darnach mit den vier Formaldehydreaktionen untersucht. Die Intensität der einzelnen Reaktionen habe ich mit Raddé's Farbenskala verglichen und die Ergebnisse auf Tabelle 2 notiert.

TABELLE 2.

Proben	Jorissen'sche Reaktion	Saure Phenyl-hydrazinprobe	Ferricyankalium-probe	Nitroprussid-probe	Substrat
P. I. a	nach 1—2 Min. 2 Zinnober 2 // u — — + *)	30 Carmin 30 // l — — +	2 Zinnober 2 // m — — +	Grün, dann Braungrün — — +	1% wässerige Hetralinlösung
P. I. b	nach 1—2 Min. 2 Zinnober 2 // t — — +	29Carmin 29 // k — + +	30 Carmin 30 k + + +	Blaugrün — + +	
P. I. c	nach 1 Min. 3 Zinnober 3 // q — + +	28Carmin 28 // i — + +	29 Carmin 29 // i + + +	Dunkelblau + + +	
P. II. a	nach 1—2 Min. 2 Zinnober 2 // t — — +	28Carmin 28 i — + +	1 Zinnober 1 l — + +	Dunkelgrün — + +	1% wässr. Hetralinlösung mit Gehalt an phosphorsauren Salzen
P. II. b	nach 1 Min. 2 Zinnober 2 // r — + +	29Carmin 29 k — + +	30 Carmin 30 k + + +	Blau + + +	
P. II. c	sofort 2 Zinnober 2 // o + + +	28Carmin 28 // g + + +	28 Carmin 28 // i + + +	Dunkelblau + + +	

*) Es bedeutet: — — + geringe,
— + + deutliche,
+ + + sehr deutliche Reaktion.

Die Rotfärbung war bei der Jorissen'schen Reaktion nach 5 Minuten, bei P. II. c aber erst nach 10 Minuten verschwunden. Die Proben mit der sauren Phenylhydrazinprobe und Ferricyankaliumprobe wurden nach etwa 10 Minuten noch intensiver; bei der Nitroprussidprobe trat nach ein bis drei Minuten rotbraune Farbe ein.

Aus dem sofortigen positiven Ausfall aller vier Reaktionen geht die Tatsache hervor, dass schon allein beim längeren Stehen der Hetralinlösungen an der Luft Formaldehyd abgespalten wird. Wie ein Vergleich der Stärke der Reaktionen von den Proben I unter sich und den Proben II unter sich zeigt, steigt mit den höheren Wärmegraden auch die Stärke der Formaldehydabspaltung. Endlich erlaubt die Tabelle 2 bei einem Vergleich der Reaktionsstärke von den einzelnen Proben unter I

mit den einzelnen Proben unter II den Schluss, dass bei letzteren die Formaldehydabspaltung noch durch das Vorhandensein von phosphorsauren Salzen günstig beeinflusst ist. Die stärkere Intensität der Formaldehydreaktionen lässt hier auf eine energischere Abspaltung des Formaldehyds schliessen als bei den Proben unter I.

II.

Die folgende Tabelle 3 soll das Verhalten der Formaldehydabspaltung aus Hetralin in saurem und durch Zusatz von H_2SO_4 angesäuertem Harn darlegen. Von 150 ccm eigenen, sauren Harn, der 1 % Hetralin gelöst enthält, werden 75 ccm mit 1 ccm verdünnter Schwefelsäure angesäuert (Probe II); die übrigen 75 ccm nicht (Probe I.)

Von diesen Proben werden wieder je 25 ccm

a. vor dem Fenster bei 1—4 ° C.
b. im Zimmer bei 18 ° C.
c. im Brutschrank bei 37 ° C.

12 Stunden lang gehalten und dann auf Formaldehyd in der angegebenen Weise untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 niedergelegt.

TABELLE 3

Proben	Jorissen'sche Reaktion	Saure Phenylhydrazinprobe	Ferricyankalium-probe	Nitroprussid-probe	Substrate
P. I. a	6 Orange 6 // r — — ?)	30 Carmin 30 // g — — +	30 Carmin 30 // l — + +	Blaugrün + +	1 % hetralinhaltiger saurer Harn
P. I. b	5 Orange 5 // p — — +	28 Carmin 28 // k — — +	30 Carmin 30 // l — + +	Dunkelblau + + +	
P. I. c	5 Orange 5 // n — + +	29 Carmin 29 // l — + +	30 Carmin 30 // k + + +	Grünblau + + +	
P. II. a	5 Orange 5 // o — + +	26 Purpur 26 // i + + +	30 Carmin 30 // k + + +	Dunkelblau + + +	1 % hetralinhaltiger saurer Harn + 1 ccm verd. H_2SO_4
P. II. b	3 Zinnober 3 // m + + +	25 Purpur 25 // h + + +	30 Carmin 30 // k + + +	Dunkelblau + + +	
P. II. c	3 Zinnober 3 // m + + +	25 Purpur 25 // g + + +	29 Carmin 29 // k + + +	Dunkelblau + + +	

*) Die Zeichen bedeuten: — — ? fragliche
— — + geringe
— + + deutliche
+ + + sehr deutliche Reaktion.

Die Jorissen'sche Reaktion fällt bei P I a fraglich aus, doch nur deshalb, weil die Deutlichkeit der Reaktion durch die gelbe Farbe des Harns verdeckt wird: denn, wie Tabelle 2 zeigt, haben wir dort bei P I a sogar in blossem Wasser unter den gleichen Verhältnissen eine positive Reaktion nach Jorissen. Ich habe hier bei der Phloroglucinprobe jeweils den intensivsten Farbenton eingetragen, wie er nach 2—4 Minuten eintrat, doch sprach auch der sofort eintretende, um einige Töne schwächere Farbenton für das Vorhandensein freien Formaldehyds in allen Proben. Dieses Ergebnis ergänzte deutlich die übrigen drei Reaktionen; sie traten gegenüber den Farbentönen in Tabelle 2 noch stärker in die Erscheinung und sprachen dafür, dass durch das Vorhandsein von Harnsäure und harnsauren Salzen, sowie von Mineralsäuren in Hetralin enthaltenden Substraten die Formaldehydabspaltung begünstigt wird.

III.

Um das Verhältnis der Formaldehydabspaltung in alkalischen und alkalisch gemachten Hetralinlösungen festzustellen, wählte ich von einem an Hydrops ascites leidenden Hund durch Punktion gewonnene Ascitesflüssigkeit und löste in 100 ccm davon 1 g Hetralin auf; ferner versetzte ich 100 ccm sauren, 1 % Hetralin enthaltenden eigenen Harn mit 1 ccm Kalilauge.

Von beiden Substraten wurden je 25 ccm

a. vor dem Fenster bei 1—4 ° C.
b. im Zimmer bei 18 ° C.
c. im Brutschrank bei 38 ° C.

12 Stunden lang aufbewahrt und dann auf Formaldehyd untersucht, wie Tabelle 4 auf Seite 13 zeigt.

TABELLE 4.

Proben	Jorissen'sche Reaktion	Saure Phenylhydrazinprobe	Ferricyankaliumprobe	Nitroprussidprobe	Substrate
P. a.	6 orange 6 // u — — — *)	30 carmin 30 // g — + +	/30'/3 zinn. 3//o /60'/2 zinn. 2//m — — +	vorübergehd. grünblau — — +	1% hetralinhaltige Ascitesflüssigkeit
P. b.	6 orange 6 // u — — —	29 carmin 29 // l — + +	/30'/2 zinn. 2//m /60'/1 zinn. 1//l — — +	blau — + +	
P. c.	5 orange 5 // q — — +	28 carmin 28 // i — + +	/2'/3 zinn. 3//n /30'/1 zinn. 1//n /60'/30 carm. 30//k — — +	dunkelblau + + +	
P. a.	7 gelb 7 // o — — —	29 carmin 29 // g — — +	5 orange 5 // o /15'//4 orange4//n /60'/3 zinn. 3//m — — ?	rotbraun — — —	1% hetralinhaltiger saurer Harn + 1 ccm K (OH)
P. b.	— — —	30 carmin 30 // g — — +	4 orange 4 // n /15'/2 zinn. 2//n /60'/2 zinn. 2//m — — ?	— — —	
P. c.	— — —	1 zinnober 1 // h — — +	4 orange 4 // n /15'/3 zinn. 3//p /60'/1 zinn. 1//l — — ?	grünbraun — — +	

*) — — — keine, — — ? fragliche, — — + geringe, — + + deutliche, + + + sehr deutliche Reaktion.

Aus der Tabelle 4 geht hervor, dass in alkalischen und noch mehr in alkalisch gemachten Substraten, die Abspaltung des Formaldehyds aus Hetralin eine viel geringere ist als in den sauren zuvor. Die Intensität der Reaktionen ist hier sogar geringer als in der 1 % wässerigen Hetralinlösung. (S. Tab. 2.)

Bei der Ascitesflüssigkeit zeigt erst P. c. nach Jorissen geringe, positive Reaktion, und die Ferricyankaliumprobe lässt deutlich darauf schliessen, dass nur wenig freier Formaldehyd vorhanden ist und der gebundene durch die bei der Reaktion zugesetzten Kalilauge nur schwer abgespalten wird; denn es treten mit dieser Probe erst nach 30—60 Minuten intensivere Reaktionen auf. Die Nitroprussidprobe zeigt bei P. a. geringe, P. b. deut-

liche und P. c. sehr deutliche Reaktion. So dürfte bei der Ascitesflüssigkeit vielleicht nur durch das längere Stehen bei höherer Temparatur eine geringe Menge Formaldehyd abgespalten worden sein, unabhängig von dem Einfluss der alkalischen Reaktion des Substrates.

Noch geringer ist die Formaldehydabspaltung bei dem alkalisch gemachten Harn; hier ist durch die Aenderung der Reaktion die Wirkung der Harnsäure und harnsauren Salze ganz ausgeschaltet. Die Formaldehydabspaltung ist eine äusserst geringe: freier Formaldehyd ist in allen Proben nur mit der sauren Phenylhydrazinprobe schwach zu erkennen, während die Phloroglucinprobe in allen drei Proben negativ ausfällt und die Ferricyankaliumprobe auf das Vorhandensein von freiem Formaldehyd überhaupt nicht, die Nitroprussidprobe nur in P. c. darauf schliessen lässt.

IV.

Dass der sauren Reaktion eines Substrates resp. deren Gehalt an Säuren und harnsauren Salzen eine sehr wichtige Rolle bei der Formaldehydabspaltung aus Hetralin zukommt, zeigt folgender Versuch: Ich stellte eine 1% wässerige Hetralinlösung und 1% Hetralin enthaltenden sauren Harn 18 Stunden lang auf Eis. Die Ergebnisse der sogleich darnach vorgenommenen Untersuchung auf Formaldehyd sind in Tabelle 5 aufgezeichnet.

TABELLE 5.

	1% wässerige Hetralinlösung 18 Stunden auf Eis	1% saurer Hetralinharn 18 Stunden auf Eis
Jorissen'sche Reaktion	nach 4'2 zinnober 2 // t nach 8 –10' verschwunden	negativ
Saure Phenylhydrazinprobe	sofort lehmgelb nach 2'29 carmin 29 // k nach 20'27 purpur 27 // i	27 purpur 27 // k
Ferricyankaliumprobe	sofort orange 6 // q nach 15'3 zinnober 3 // m nach 40'2 zinnober 2 // m	3 zinnober 3 // n nach 30'1 zinnober 1 // l
Nitroprussidprobe	sofort rotbraun	dunkelbraungrün

Die Tabelle 5 zeigt, dass bei der wässerigen Hetralinlösung, wenn dieselbe auf Eis gehalten wird, eine Abspaltung von freiem Formaldehyd nicht vor sich geht. Die Reaktionen, welche erst nach mehreren Minuten eintraten, sind nicht auf vorhanden gewesenen freien Formaldehyd, sondern auf den durch die Lauge oder Säure bei der Reaktion frei gemachten Formaldehyd zurückzuführen. Dagegen zeigt der Hetralinharn unter den gleichen Verhältnissen mit ziemlich deutlicher Reaktion das Vorhandensein von freiem Formaldehyd an. Diese Tatsache dürfte wohl nur auf die Gegenwart der Harnsäure und der harnsauren Salze im Harn zurückzuführen sein.

V.

Um die Abspaltung von Formaldehyd bei Siedetemparatur festzustellen, erhitzte ich den 1 % Hetralinharn vom letzten Versuch bis zum Aufkochen. Dabei entstand vermöge des Hetralingehaltes eine Ausfällung voluminöser, gelbbrauner Flocken. Nach dem Filtrieren und Erkalten der Lösung zeigte diese nachstehende Reaktionen:

1. Jorissen'sche Reaktion: 3 Zinnober 3 // p nach circa 1 Stunde verschwunden.
2. Saure Phenylhydrazinprobe: 29 Carmin 29 // 1.
3. Ferricyankaliumprobe: 4 Orange 4//o, nach 20'1 Zinnober 1 // 1.
4. Nitroprussidprobe: Legal. Reaktion.

Diese geringe Intensität der Formaldehydreaktion beim Erhitzen der Hetralinlösung scheint darauf zurückzuführen zu sein, dass dabei energisch abgespaltenes Formaldehyd schnell entweicht, sodass nur noch ein Teil desselben zurückbleibt.

VI.

Endlich geht eine Abspaltung von Formaldehyd aus Hetralinlösungen vor sich, wenn beim Ausschütteln einer solchen Lösung mit Aether im Scheidetrichter eine Spaltung des Resorcins vom Hexamethylentetramin eintritt; denn eine frisch bereitete 1% wässerige Hetralinlösung, die mit der Jorissen'schen Reaktion negatives Resultat gab, zeigte nach dem Ausschütteln mit Aether sofort 3 Zinnober 3 // t, welcher Farbenton längere Zeit bestehen blieb. Die nicht ausgeschüttelte Probe, welche mit

der Jorissen'schen Reaktion behandelt worden war, zeigte nach etwa einer Stunde Rosaschimmer, welcher auch nach mehreren Stunden noch nicht verschwand. Dieselben Verhältnisse beobachtete ich auch in verschiedenen Harnkonzentrationen.

Sonach ist hinsichtlich der Abspaltung von Formaldehyd aus Hetralinlösungen festgestellt,

dass freier Formaldehyd nicht auftritt in frischbereiteten kalten Hetralinlösungen und in längere Zeit auf Eis stehenden indifferenten Lösungen,

dass dagegen eine Abspaltung von freiem Formaldehyd entsteht unter dem Einfluss von Säuren, Harnsäuren, harnsauren Salzen, höheren Temparaturgraden, beim längeren Stehen an der Luft bei einer Temparatur von über 0° C, endlich beim Abspalten des Resorcins von Hexamethylentetramin durch Ausschütteln mit Aether. In Substraten von alkalischer Reaktion ist die Formaldehydabspaltung nur eine geringe.

2. Bakteriologische Untersuchungen.

Aus der Intensität der Formaldehydreaktionen in vorstehenden chemischen Untersuchungen geht hervor, dass die Formaldehydabspaltung bei Brutschranktemparatur stärker ist als bei Zimmertemparatur. Reicht nun dieser bei Zimmertemparatur abgespaltene Formaldehyd in verschiedenen mit Hetralin versetzten Nährmedien hin, eine antiseptische oder kolyseptische Wirkung auf Bakterien auszuüben und sind um diese Wirkung zu erreichen, entsprechend dem geringeren Formaldehydgehalt, stärkere Konzentrationen des Hetralinsubstrates notwendig?

Feststellung des antiseptischen resp. kolyseptischen Wertes von Hetralin bei Brutschrank- und Zimmertemparatur.

a. in alkalischer Bouillon geimpft mit Bakterium pyocyaneum.

Ich stellte mir in je 10 ccm alkalischer Bouillon auf die Seite 6 beschriebene Weise je zwei Proben verschiedener Konzentrationsgrade von Hetralin her und impfte sie darnach mit je einer Oese Bakterium pyocyaneum aus einer Reinkultur in Bouillon. Den einen Teil dieser geimpften Konzentrationen stellte ich in

den Brutschrank, den anderen an einen dunklen Ort des gleichmässig auf 18 ° erwärmten Zimmers. Die Ergebnisse der Impfung sind auf Tabelle 6 verzeichnet.

TABELLE 6.

Hetralin in alkalischer Bouillon geimpft mit Pyocyaneus bei Brutschrank- und Zimmertemparatur.

Ausgeführt am 15. X. 05.

Glas Nr.	Concentration	Wachstum im Brutschrank am			Wachstum im Zimmer am			
		16.	17.	18.	20.	25.	26.	27.
1	1 : 100	—*	—	—	—	—	—	—
2	1 : 200	—	—	—	—	—	—	—
3	1 : 300	—	—	—	—	—	—	—
4	1 : 400	—	—	—	—	—	—	—
5	1 : 500	—	+	+	—	—	+	+!
6	1 : 600	—	+!	+!	—	+	+	+!

* Es bedeutet: — kein Wachstum
\+ undeutliches Wachstum
\+! deutliches Wachstum.

Aus den klar gebliebenen Kulturen von Glas 3 und 4 impfte ich jeweils ab auf alkalische Bouillon und stellte diese in den Brutschrank. Es zeigte sich aber in den nächsten drei Tagen auf der abgeimpften Bouillon keinerlei Wachstum. Demnach vermag das Hetralin vermöge seiner energischen Formaldehydabspaltung wie im Brutschrank so auch schon bei Zimmertemparatur in alkalischer Bouillon bei einer Konzentration 1 : 400 eine antiseptische Wirkung auf Mikroorganismen auszuüben. Bei einer Konzentration von 1 : 500 beginnt das Bakterienwachstum. Dass in dem bei Zimmertemparatur aufgestellten Kulturen das Wachstum des Bacterium pyocyaneum erst nach 10 Tagen in die Erscheinung trat, ist aus dem verzögerten Wachstum des Pyocyaneus bei Zimmertemparatur einerseits und der bei 16—18 ° C. noch energischen Formaldehydabspaltung aus dem Hetralin andererseits zu erklären. Während nämlich Bacterium pyocyaneum bei 37 ° schon nach 12 bis 24 Stunden die alkalische Bouillon unter Bildung eines grasgrünen, fluoreszierenden Farbstoffes trübte, zeigte sich bei Zimmertemparatur in der alkalischen Bouillon am zweiten Tage eine schwache Kahmhaut, am dritten Tage ein von der Oberfläche her sich verbreitender grüner etwa 1 cm breiter Ring und erst am vierten Tage war die Kultur von dem Farbstoff ganz durchsetzt.

Aus dem gleichen antiseptischen Effekt der Hetralinkonzentrationen bei Brutschrank- und Zimmertemparatur darf man nicht ohne Weiteres auf eine gleich starke Formaldehydabspaltung aus denselben schliessen, sondern muss dabei dieses kompensatorische Verhältnis zwischen geringerer Formaldehydabspaltung und schlechterem Bakterienwachstum bei Zimmertemparatur berücksichtigen.

b. TABELLE 7.

Hetralin in neutraler Bouillon geimpft mit Pyocyaneus bei Brutschrank- und Zimmertemparatur.

Ausgeführt am 18. X. 05.

Glas Nr.	Konzentration	Wachstum im Brutschrank am			Wachstum im Zimmer am		
		19.	20.	21.	19.	20.	22.
1	1 : 100	—*	—	—	—	—	—
2	1 : 200	—	—	—	—	—	—
3	1 : 300	—	—	—	—	—	—
4	1 : 400	—	—	—	—	—	—
5	1 : 500	+	+!	+!	—	—	—
6	1 : 600	+	+!	+!	—	—	—

* Es bedeutet: — kein Wachstum
\+ undeutliches Wachstum
\+! deutliches Wachstum.

Nachfolgende Konzentrationen wurden am 22. Oktober abgeimpft auf alkalische Bouillon, um festzustellen, ob in dem bei Zimmer- und Brutschranktemparatur klar gebliebenen Kulturen eine Abtötung der eingeimpften Mikroorganismen stattgefunden hat (Antisepsis) oder ob der Pyocyaneus nur in seiner Entwickelung gehemmt war (Kolysepsis).

Am 22. Oktober abgeimpft auf alkalische Bouillon

von den Kulturen bei Zimmertemparatur:	Wachstum am 23.	24.	25.
Glas 1	—	—	—
Glas 2	—	—	—
Glas 3	—	—	—
Glas 4	+	+!	+!
Glas 5	+	+!	+!
Glas 6	+!	+!	+!

von den Kulturen	Wachstum am		
bei Brutschranktemparatur:	23.	24.	25.
Glas 1	—	—	—
Glas 2	—	—	—
Glas 3	—	—	—
Glas 4	+	+!	+!

Bacterium pyocyaneum zeigt auf neutraler Bouillon bei Zimmertemparatur und im Brutschrank undeutlicheres und verzögerteres Wachstum als in alkalischer Bouillon; daher mag es kommen, dass hier in den Kulturen bei 18° Pyocyaneus noch bei 1 : 600 in seiner Entwickelung gehemmt wurde. Wie die abgeimpften Proben zeigen, tritt infolge der Formaldehydabspaltung aus dem Hetralin bei Zimmertemparatur in der neutralen Bouillon eine antiseptische Wirkung bei einer Konzentration 1 : 300 und eine kolyseptische Wirkung von 1 : 400 ab ein.

Die unter 37° gestellten Kulturen zeigten von 1 : 500 ab nach zwei Tagen deutliches Wachstum (grüngelb); bei 1 : 400 tritt eine kolyseptische und bei 1 : 300 eine antiseptische Wirkung ein wie in den ersteren Konzentrationen.

Dieses Verhalten des Pyocyaneus in neutraler Bouillon ist ein neuer Beweis für die leichte Abspaltung des Formaldehyds aus Hetralinlösungen bei Zimmertemparatur.

c. TABELLE 8.

Hetralin in saurem Harn geimpft mit Pyocyaneus bei Brutschrank- und Zimmertemparatur.

Ausgeführt am 25. X. 05.

Glas Nr.	Konzentration	Wachstum im Brutschrank am			Wachstum im Zimmer am		
		25.	26.	27.	25.	26.	28.
1	1 : 200	—*	—	—	—	—	—
2	1 : 400	—	—	—	—	—	—
3	1 : 500	—	—	—	—	—	—
4	1 : 600	—	—	—	—	—	—
5	1 : 700	—	—	—	—	—	—
6	1 : 800	—	—	+	—	—	+
7	1 : 1000	+	+!	+!	—	—	+
8	1 : 2000	+	+!	+!	+	+	+!
9	1 : 4000	+!	+!	+!	+	+	+!

* Es bedeutet: — kein Wachstum
\+ undeutliches Wachstum
\+! deutliches Wachstum.

Am 28. Oktober abgeimpft auf alkalische Bouillon

von den Kulturen	Wachstum am		
bei Zimmertemparatur:	29.	30.	1. XI.
Glas 1	—	—	—
Glas 2	—	—	—
Glas 3	—	—	—
Glas 4	—	—	—
Glas 5	—	+	+!
Glas 6	—	+!	+!
von den Kulturen	Wachstum am		
bei Brutschranktemparatur:	29.	30.	1. XI.
Glas 3	—	—	—
Glas 4	—	—	—
Glas 5	—	+!	+!

In der vorstehenden Tabelle 8 habe ich meine Versuche über die Formaldehydabspaltung aus Hetralin in saurem Substrat registriert. Die verschiedenen Konzentrationen wurden in der Seite 6 aufgezeichneten Weise hergestellt und mit einer Reinkultur von Bacterium pyocyaneum infiziert. Von je 2 Proben derselben Konzentration wurde die eine in den Brutschrank bei 37° C., die andere an einem dunkeln Ort des auf 18° C. gleichmässig erheizten Zimmers gestellt.

Am 3ten und 4ten Tage waren die Verdünnungen bis 1:700 noch klar, wogegen in denjenigen von 1:800 ab mehr oder weniger deutliches Bakterienwachstum eingetreten war. Um festzustellen, ob in den klar gebliebenen Proben die künstlich hineingebrachten Mikroorganismen wirklich abgetötet oder nur in ihrer Entwickelung gehemmt waren, impfte ich aus ihnen auf sterile, alkalische Bouillon über. Als Ergebnis dieser Impfversuche zeigte sich, dass bei den sowohl im Brutschrank als bei Zimmertemparatur gehaltenen Proben bei der Konzentration 1:600 und stärker eine antiseptische und bei 1:700 eine kolyseptische Wirkung eintrat. Wie in alkalischen und neutralen Nährmedien so haben wir also auch hier bei 37 und 18° C. denselben antiseptischen Effekt zu verzeichnen.

Die chemischen Untersuchungen über die Stärke der Formaldehydabspaltung bei verschiedenen Temparaturgraden haben gezeigt, dass dieselbe bei Zimmertemparatur eine etwas geringere ist. Gleichwohl reichte sie nach diesen Züchtungsversuchen

in mit Hetralin versetzten Nährboden auch bei 18° C. hin, dieselbe desinfektorische Wirkung auf Bacterium pyocyaneum auszuüben, wie sie bei den im Brutschrank gehaltenen Proben auftrat. Es ergänzen somit diese bakteriologischen Untersuchungen die vorausgegangenen chemischen und liefern einen deutlichen Beweis für die energische Abspaltung von Formaldehyd aus dem Hetralin und für seinen hohen antiseptischen Wert.

Dem gegenüber stellte Nicolaier (1) für das Urotropin fest, dass eine Formaldehydabspaltung aus Urotropinlösungen erst bei 37° erfolgt und selbst 1% Urotropin enthaltende Nährmedien erst bei Körpertemparatur eine entwicklungshemmende Wirkung auf Mikroorganismen auszuüben vermögen.

III. Chemisch-physiologisches Verhalten von Resorcin und Formaldehyd nach Aufnahme des Hetralins in den Tierkörper.

I. Versuche zum Nachweis des Resorcins im Harn nach Hetralingebrauch.

Wie uns Baumann (23) zuerst mitgeteilt hat, finden sich im Harn von Menschen, Hunden und noch mehr von Pflanzenfressern als normale Bestandteile desselben «gepaarte Schwefelsäuren» vor mit dem Charakter von Sulfosäuren; von diesen hat er hauptsächlich 3 Substanzen im Harn als solche erkannt, die sogenannte «Phenol-bildende», die «Indigo-bildende» und die «Brenzkatechin-bildende» Substanz. Baumann bewies auch bei diesen ersten Versuchen, in den Tierkörper eingeführtes Phenol und Brenzkatechin im Harn nach, wie es auch von Hoppe-Seyler (24) für das Phenol und von Müller und Ebstein (25) für das Brenzkatechin ausgeführt worden ist.

Darauf hat E. Baumann (26,27) die Sulfosäuren als Aetherschwefelsäuren erkannt; er hat ihr Alkalisalz aus «Carbolharn» und Pflanzenfresserharn dargestellt und die Methode zur Bestimmung der Schwefelsäure und Aetherschwefelsäure im Harn genauer präzisiert. Die Methode beruht darauf, dass die Aetherschwefelsäuren stärkere Säuren sind als die Essigsäure und daher selbst bei einstündigem Erwärmen mit dieser nicht zerlegt werden; wohl aber werden ihre Salze durch starke Mineralsäuren zerlegt in Schwefelsäure und einem aromatischen Körper. Die so erhaltene Schwefelsäure aus der Aetherschwefelsäure des Harns wird mit Chlorbaryum gefällt und in Vergleich gezogen mit der aus essigsaurer Lösung ausgefällten sog. Sulfatschwefelsäure.

Baumann (26.27) hat auf diese Weise in verschiedenen normalen Harnen die Menge der in Form vom Baryumsulfat ausgeschiedenen Sulfatschwefelsäure und Aetherschwefelsäure quantitativ bestimmt und kam zu der Ansicht, dass Pflanzennahrung eine reichlichere Ausscheidung der «gepaarten Schwefelsäure» bedingt.

Wie E. Baumann und E. Herter (28) deutlich gezeigt haben, ist jedoch das normale Verhältnis der in beiden Formen ausgeschiedenen Schwefelsäuremengen ein in ziemlich weiten Grenzen

schwankendes, abhängig von der Nahrung und dem Zustande des Darmkanals. Das ist wichtig für den Nachweis von aromatischen Substanzen im Harn nach ihrer Einführung in den Tierkörper. Diese treten bekanntlich an Schwefelsäure gepaart im Harn auf und können in den meisten Fällen durch Kochen mit Mineralsäuren in Schwefelsäure einerseits und eine aromatische Substanz andererseits gespalten und nachgewiesen werden.

In den Fällen, wo diese Isolierung der aromatischen Substanz nicht möglich war, begnügten sich Baumann und Herter (28) mit der Konstatierung einer Verminderung der Sulfatschwefelsäure und einer Zunahme der Aetherschwefelsäure. Dieser indirekte Nachweis des Vorhandenseins einer eingeführten aromatischen Substanz im Harn, erkenntlich an der reichlich gebildeten Aetherschwefelsäure, ist bei den angeführten weiten Grenzen des Verhältnisses zwischen den beiden Formen von Schwefelsäure im Harn nur beweisend, wenn in dem entleerten Harn bedeutend mehr Aetherschwefelsäure als normaliter nachweisbar und die Sulfatschwefelsäure erheblich vermindert oder geschwunden ist.

Schomacker (29) ferner hat nach der Dragendorff'schen Methode (30) nach Einführung des Resorcins in den Tierkörper dasselbe im Harn und bei Vergiftungsfällen in allen Organen nachgewiesen, im Harn bei grossen Dosen, sowie in der Leber und der Blase zum Teil als freies, zum Teil als mit Schwefelsäure gepaartes Resorcin.

In meinen angeführten Versuchen über die Nachweisbarkeit des Resorcins im Harn nach innerlicher Verabreichung von Hetralin habe ich mich zunächst teilweise der von Schomacker (29) angewandten Methode bedient, teilweise der von Spaeth (31) angegebenen. Zugleich habe ich bei diesen Versuchen einige Aufzeichnungen über den Formaldehydnachweis im Harn angeführt, welche jedoch erst im nächsten Kapitel einer näheren Betrachtung unterzogen werden sollen und hier nur als Beweis für die Ausscheidung des Hetralins im Tierkörper dienen.

Zum Nachweis des Resorcins in den Aetherverdunstungsrückständen bediente ich mich folgender Reaktionen:

1. Eisenchlorid gibt in stark verdünnter Lösung bei einem Rückstand von 0,001 g Resorcin schöne violette Färbung (22//g), die bei 0,0005 g nicht mehr eintritt (Schomacker).

2. Chlorkalk gibt in verdünnter Lösung bei einem Rückstand von 0,0001 g Resorcin deutliche Violettfärbung (24/ g), die beim Stehen in gelb übergeht (Schomacker).

3. Fröhdes Reagens gibt bei längerem Stehen nach Zusatz von 0,0005 g violette (22 // f) Färbung (Schomacker).

4. Vanadinschwefelsäure gibt anfangs blaue Färbung (20/'g), die beim Stehen violett wird (24'/e). Die Reaktion tritt noch ein bei 0,00005 g Resorcin, doch ohne deutlichen Uebergang nach 24 // e (Schomacker).

5. Chlorzink, Jodtinktur, Ammoniak, der Reihe nach tropfenweise zugesetzt, lassen einen blauen Farbenton endstehen, der bei grösseren Mengen sofort eintritt, bei geringeren bis zu 0,0005 g aber erst nach längerem Stehen sich zeigt. (Schomacker).

6. Bromwasser fällt gelbes Tribromresorcin, mit rotbrauner Farbe in Ammoniak löslich.

7. Einige Tropfen Chloroform und Natronlauge und erwärmt erzeugen stark rosa bis carminrote Färbung.

8. Bleiacetat der wässerigen Resorcinlösung zugetropft gibt keine Fällung, Bleiessig fällt weiss u. a.

Nach Schomacker (29) scheint die Ausscheidung des Resorcins in 6—7 Stunden beendet zu sein; daher beschränkte ich mich bei den folgenden Versuchen zum Nachweis des Resorcins im Tierkörper im wesentlichen auf diesen Zeitabschnitt nach der Aufnahme des Hetralins per os.

Versuch I.

Am 24. VII. 05. 2 h. 30 m N. M. nahm ich selbst 0,015 pro kg, 1,0 in toto Hetralin in 150 ccm Wasser gelöst.

Urin I. 24. VII. 3 h. 30 m, 120 ccm.

Reaktion sauer. Spezifisches Gewicht 1,020. Kein Eiweiss. Die Formaldehydreaktionen ergaben nach

1. Jorissen — gering,
2. Saure Phenylhydrazinprobe — sehr deutlich,
3. Ferricyankaliumprobe — sehr deutlich,
4. Nitroprussidprobe — Leg. Reaktion.

Urin II. 24. VII. 5 h. N. M. 200 ccm.

Reaktion: stark sauer. Spezifisches Gewicht 1,016.

Resorcinnachweisversuch:

100 ccm Harn wurden mit 4 ccm H_2SO_4 (conc.) angesäuert, gekocht und auf etwa den vierten Teil eingedampft. Nach

dem Erkalten und Filtrieren des schwarzbraun gewordenen Harns wurde derselbe mit Petroläther und 3mal mit Essigäther ausgeschüttelt.

Der Aetherverdunstungsrückstand von beiden Auszügen wies mit keiner der angeführten Reaktionen auf das Vorhandensein von Resorcin hin.

Formaldehydreaktionen nach

1. Jorissen — deutlich,
2. Saure Phenylhydrazinprobe — sehr deutlich,
3. Ferricyankaliumprobe — sehr deutlich,
4. Nitroprussidprobe — deutlich.

Urin III. 25. VII. 3 h. N. M. normal.

Formaldehydreaktionen nach

1. Jorissen — negativ,
2. Saure Phenylhydrazinprobe — deutlich,
3. Ferricyankaliumprobe — sehr deutlich,
4. Nitroprussidprobe — Leg. Reaktion.

40 ccm von Urin III. mit 2 ccm verd. $H_2 SO_4$ angesäuert, wurden im strömenden Wasserdampf destilliert (ca. 25 ccm).

Im Destillat erhielt ich folgende Reaktionen:

1. Jorissen — deutlich,
2. Judd. — deutlich,
3. Riegler — gering,
4. Ferricyankalium — deutlich,
5. Schiffsches Reag. nach einiger Zeit — deutlich,
6. Natrium nitroprussid — Leg. Reakt.,
7. Thomson — deutlich.

Urin IV. 26. VII. 2 h. N. M. normal.

Die Formaldehydreaktionen ergaben mit:

1. Jorissen — negativ,
2. Saure Phenylhydrazinprobe — negativ,
3. Ferricyankaliumprobe — gering,
4. Nitroprussidprobe — Leg. Reaktion.

Urin V. 26. VII. 6 h. N. M. normal.

Die Formaldehydreaktionen waren nach

1. Jorissen — negativ,
2. Saure Phenylhydrazinprobe — negativ,
3. Ferricyankaliumprobe — fraglich,
4. Nitroprussidprobe — Leg. Reaktion.

50 ccm Urin V, mit 2 ccm $H_2 SO_4$ angesäuert und im strömenden Wasserdampf destilliert, ergaben im Destillat mit

1. Jorissen — gering,
2. Judd. — gering,
3. Riegler — fraglich,
4. Ferricyankalium — negativ,
5. Schiffsches Reag. — negativ,
6. Nitroprussid — Leg. Reaktion.

Urin VI. 27. VII. 05. normal, 3 h. 30 m. N. M.

Im Filtrat erhielt ich:

1. Jorissen — negativ,
2. Saure Phenylhydrazin — negativ,
3. Ferricyankalium — gering,
4. Nitroprussid — Leg. Reaktion.

Im Destillat erhielt ich:

1. Jorissen — gering,
2. Judd. — fraglich,
3. Riegler — negativ,
4. Ferricyankalium — negativ,
5. Schiffsches Reag. — negativ.

Urin VII. 28. VII. 05. 4 h. N. M. zeigte weder selbst noch sein Destillat durch irgend eine Formaldehydreaktion den Gehalt von Fermaldehyd an.

Aus Urin I, II und III, sowie aus zuvor gelassenem Harn stellte ich Proben zu je 10 ccm in Reagensgläsern, mit einem Wattebäuschchen leicht verschlossen, bei Zimmertemparatur auf; nach 14 Tagen waren die Proben aus Urin I, II und III in ihrer Reaktion und klarem Aussehen noch unverändert, während die Probe mit dem nativen Harn nach etwa 48 Stunden in ammoniakalische Harngärung übergegangen war.

Versuch II. 1. VIII. 05.

No. 1 Dachshund, weiss mit schwarzen Flecken ♀ $1^1/_4$ Jahr alt, 5,5 kg schwer, erhält 4 h. N. M. 0,3 pro kg, 1,6 in toto Hetralin, in Wasser gelöst, eingeschüttet. Das Tier wurde in den Harnkasten gesetzt.

Urin I. 1./2. VIII. 355 ccm über Nacht gelassen, klar, alkalisch, kein Eiweiss.

Resorcinnachweisversuch nach Spaeth:
250 ccm Urin I wurden auf den 4ten Teil eingedampft; der Rest wurde mit 2 ccm conc. $H_2 SO_4$ angesäuert und $^1/_4$ Stunde lang gekocht, filtriert und mehrmals gehörig mit Aether ausgeschüttelt; der Aetherverdunstungsrückstand wurde mit Wasser aufgenommen, mit kohlensaurem Baryt gekocht, filtriert, mit Tierkohle ausgeschüttelt und dann wieder auf einer Uhrschale verdunsten lassen.
Der mit Wasser gelöste Rückstand ergab mit den Resorcinreaktionen wieder negatives Resultat.
Resorcinnachweisversuch nach Schomacker:
70 ccm Urin I wurden mit conc. H Cl versetzt, $^1/_4$ Stunde lang gekocht, filtriert, darauf mit Petroläther und Essigäther ausgeschüttelt.
In beiden mit Wasser aufgenommenen Verdunstungsrückständen war der Resorcinnachweis negativ.
Formaldehydnachweis im Urin I

1. Jorissen — sehr deutlich,
2. Saure Phenylhydrazin — deutlich,
3. Ferricyankalium — sehr deutlich,
4. Nitroprussid — deutlich.

Urin II, vom 2./3. VIII. abgesetzt und am 3. VIII. morgens abgefangen, 210 ccm, trüb, mit Fäces verunreinigt, alkalisch, kein Eiweiss.
Im Filtrat ergab der Nachweis auf Formaldehyd:

1. Jorissen — gering,
2. Saure Phenylhydrazin — negativ,
3. Ferricyankalium — gering,
4. Nitroprussid — Leg. Reaktion.

Urin III, von morgens bis zum Mittag des 3. VIII. im Harnkasten gelassen, ca. 200 ccm, trübgelb, alkalisch, sehr stark mit dünnbreiigen Fäces verunreinigt.
Formaldehydreaktionen des Filtrates:

1. Jorrissen — negativ,
2. Phenylhydrazin — negativ,
3. Ferricyankalium — fraglich,
4. Nitroprussid — Leg. Reaktion.

Urin IV, vom 3./4. VIII. über Nacht abgesetzt, ca. 150 ccm, gelb alkalisch, normal.

Formaldehydreaktionen: negativ.

Das Tier zeigte bei dieser starken Dosis von 0,3 pro kg Hetralin keine Störung des Allgemeinbefindens, doch trat bei seiner gewöhnlichen Fütterung mit Magermilch, Brot und Hundekuchen, eine kurz andauernde Diarrhoe und Polyurie ein.

Den Resorcinnachweis im Harn nach der von Spaeth angegebenen Methode wiederholte ich im Versuch X S. 51 bei einer Dosis von 0,5 pro kg Körpergewicht, jedoch auch mit negativem Resultat.

Da es mir in vorstehenden Versuchen nicht gelang, das Dioxybenzol aus dem Harn zu isolieren, Baumann und Herter (28) jedoch zeigten, dass die Dihydroxylbenzole und ihre Homologe im Organismus zwei Aetherschwefelsäuren bilden, eine Monäther- und Diätherschwefelsäure resp. deren Salz, so suchte ich im Versuch III eine Verminderung der Sulfatschwefelsäure auf Kosten der Aetherschwefelsäure festzustellen, um damit indirekt das Vorhandensein des Dioxybenzoles nach Einführung des Hetralins in den Tierkörper nachzuweisen.

Versuch III. 13. VIII. 05.

Ausgehend von der Angabe E. Baumann's (32), dass nach Gaben von 2—3 g Resorcin beim Hund im Harn das Salz einer Aetherschwefelsäure desselben erscheint, erhielt ein Hund eine in ihrem Resorcingehalt dieser Menge etwa entsprechende Hetralingabe.

No. 2 Schnauzer, gelb und weiss, ♂ 1½ Jahr, 11 kg, erhielt am 13. VIII. 9 h. 45 m. vormittags 0,45 pro kg — 5 g in toto Hetralin, in 100 ccm Wasser gelöst, eingeschüttet. Fütterung mit Milch, Brot und Fleisch.

Urin I. 13. VIII. 11 h. 45 m. vormittags, mit dem Katheter entnommen, 60 ccm, alkalisch, grüngelb, kein Eiweiss.

Bestimmung der Schwefelsäure und der gepaarten Schwefelsäure im Urin I:

50 ccm wurden mit Essigsäure, einem gleichen Volumen Wasser und Chlorbaryum im Ueberschuss versetzt und auf dem Wasserbade erwärmt bis sich der Niederschlag nach ¾ Stunden klar abgesetzt hatte. Der abfiltrierte Niederschlag wurde mit Wasser, dann mit warmer, verdünnter Salzsäure, zuletzt wieder mit Wasser ausgewaschen. Der nach dem

Trocknen grau aussehende Niederschlag I war nur in geringer Menge vorhanden (einige Centigramm) und ergab die Menge der in Form von Salzen im Harn enthaltenen Schwefelsäure (Sulfatschwefelsäure).

Das mit den Waschwassern vereinigte, rötlichgelb aussehende Filtrat wurde noch mit etwas verdünnter Salzsäure versetzt und $^1/_4$ Stunde auf dem Wasserbade gekocht, bis der gebildete gelblich weisse Niederschlag sich klar abgesetzt hatte. Auf dem Filter blieb ein bedeutend reichlicherer, schmieriger, lehmgelber Niederschlag II; derselbe enthielt neben schwefelsaurem Baryt braune harzige Substanzen, die durch Waschen mit heissem Alkohol und Nachspülen mit heissem Wasser zum grössten Teil entfernt wurden. Das Gewicht dieses II. Niederschlages von schwefelsaurem Baryum ergab die Menge der in dem Harn enthaltenen gepaarten Schwefelsäure (Aetherschwefelsäure).

Dass die beiden Niederschläge aus Baryumsulfat bestanden, bewies ihre Unlöslichkeit in Wasser und Säuren, ferner bildeten sie, mit Natriumcarbonat vermengt, in der Reduktionsflamme auf Holzkohle eine sog. Hepar (Bildung von Ag_2S auf blanker Silbermünze).

Von einer quantitativen Bestimmung der beiden Niederschläge habe ich abgesehen, da bei einem Vergleich mit der Menge der Niederschläge unter sich schon auf eine bedeutende Zunahme der Aetherschwefelsäure und Abnahme der Sulfatschwefelsäure zu schliessen war. Diese Verhältnisse decken sich auch mit den im Urin III, IV und V gemachten Beobachtungen, dass nach dem Ansäuern mit Essigsäure und Chlorbaryumzusatz kein weisser Niederschlag von $BaSO_4$ entstand, während derselbe im Urin VI und folgenden auf eine wieder eintretende Zunahme der Sulfatschwefelsäure hinwies. Mit dieser Zunahme der Sulfatschwefelsäure war eine Abnahme des Formaldehyds in dem Hetralinharn zu konstatieren. Umsomehr ist eine Zunahme der Aetherschwefelsäure als durch das im Hetralin enthaltene Dioxybenzol hervorgerufen zu betrachten, weil nach Baumann (26) die Ausscheidung der gepaarten Schwefelsäure bei den mit Milch, Fleisch und Brot gefütterten Hunden am geringsten ist. Ich habe diesen Versuch noch zur Bestimmung der

Ausscheidungsdauer von Formaldehyd im Harn benutzt, worauf ich der Uebersicht wegen später verweisen möchte. Ferner beobachtete ich in den innerhalb 18 Stunden abgesetzten Urinen das Auftreten von Hämaturie und 48 Stunden lang Auftreten von Eiweiss im Harn. Oligurie.

Urin II. 13. VIII. 6 h. 30 m., mit Katheter entnommen. 50-60 ccm trüb, rotbraun, schwach alkalisch, spez. Gewicht 1,040. Stark eiweisshaltig. Methämoglobinspectrum.

Urin III. 13./14. VIII., im Harnkasten abgefangen, ca 30 ccm, dunkelkaffeebraun, undurchsichtig, schwach sauer, spez. Gewicht 1,055. Serumalbumin und Serumglobulin. Oxyhämoglobinspectrum.

Im Centrifugenrückstand weisse und rote Blutkörperchen.

Urin IV. 14. VIII. zwischen 2 und 4 h. Nachmittags im Harnkasten abgefangen, 35 ccm, kaffeebraun, neutral, eiweisshaltig. Oxyhämoglobinspectrum.

Urin V. 15. VIII. Im Laufe des Vormittags im Harnkasten abgesetzt, (über Nacht urinierte das Tier nicht) 75 ccm, trüb, dunkelgelb, durchscheinend, amphoter. spez. Gewicht 1,052. Eiweissreaktion geringer.

Spectroscopische Untersuchung negativ.

Urin VI. 15./16. VIII. abgesetzt, 58 ccm, trübgelb, durchscheinend, amphoter. spez. Gew. 1,038. Kein Eiweiss mehr.

Hinsichtlich der Störung des Allgemeinbefindens zeigte der sonst sehr lebhafte, zutrauliche Hund in der ersten Stunde Traurigkeit, Angst, leichter, einen Tag anhaltender Durchfall.

Der negative Ausfall des direkten Resorcinnachweises im Harn nach Hetralingebrauch könnte auf der Bildung eines Condensationsproduktes des Resorcins mit Formaldehyd beruhen, ähnlich wie es Jaffé und Strzyzowski (33) für einen anderen aromatischen Körper, das Indican, nachgewiesen haben.

In dieser Annahme machte ich den Versuch IV. 28. XI. 05. No. 3, Halbhund, ♂. 1 Jahr, 15 kg, erhielt 7 h. 50 m. V. M. 0,05 pro kg — 0,75 g in toto Resorcin in 120 ccm Wasser mit der Schlundsonde.

9 h. 15 m. erste Harnentnahme mit dem Katheter-Resorcinharn (sauer).

9 h. 20 m. bis 9 h. 40 m. machte ich dem Tier eine intravenöse Injektion von 0,002 pro kg = 0,03 in toto Formol in einer Konzentration von 1 : 2000. (Von einer Lösung 0,5 g Formalin : 500 Aqua sterilis. wurden 30 ccm, mit 20 ccm sterilis. physiologischer Kochsalzlösung versetzt, unter aseptischen und antiseptischen Cautelen injiciert).

11 h. 05 m. zweite Harnentnahme = Resorcin-Formaldehydharn I (neutral).

6 h. abends dritte Harnentnahme = Resorcin-Formaldehydharn II (alkalisch).

Resorcinnachweis in der ersten Harnprobe.

Resorcinharn von 9 h. 15 m. nur 15 ccm, braungelb, sauer (der Harn zuvor war alkalisch). Die 15 ccm wurden mit 1 ccm conc. $H_2 SO_4$ angesäuert, stark aufgekocht, filtriert und mit Aether ausgeschüttelt.

Im Aetherverdunstungsrückstand erhielt ich deutliche Resorcinreaktionen:

1. Bromwasser — sehr deutlich,
2. Chlorkalklösung — sehr deutlich,
3. Eisenchloridlösung — negativ,
4. Vanadinschwefelsäure — deutlich.

Resorcinnachweis in der zweiten Harnprobe.

Resorcin-Formaldehydharn von 11 h. 05 m., 130 ccm, klar, grüngelb, neutral, spez. Gew. 1,012. kein Eiweiss. 50 ccm davon wurden mit 3 ccm conc. H Cl $^1/_4$ Stunde lang gekocht, dann filtriert und 3mal mit Aether ausgeschüttelt.

Im Aetherverdunstungsrückstand erhielt ich positive Resorcinreaktionen:

1. Bromwasser — deutlich,
2. Chlorkalklösung — sehr deutlich,
3. Chloroform und Natronlauge — sehr deutlich,
4. Eisenchloridlösung — deutlich,
5. Chlorzink, Jodtinctur, Ammoniak — deutlich,
6. Vanadinschwefelsäure — sehr deutlich.

Den Beweis, dass gleichzeitig mit dem Resorcin in der zweiten Harnprobe Formaldehyd mit ausgeschieden wird, liefert die Tabelle No. 9.

TABELLE 9.

Reaktionen	Resorcin-Formaldehyd-harn I	Resorcin-Formaldehyd-harn II
Jorissen	4 orange 4 // o — + + *)	5 orange 5 // q — — +
Saure Phenylhydrazin-probe	4 orange 4 // i — — —	3 zinnober 3 // f — — —
Ferricyankaliumprobe	3 zinnober 3 // m — — +	(20') 3 zinnober 3 // l — — +
Nitroprussidprobe	Leg. Reaktion	Leg. Reaktion

*) — — — bedeutet keine,
— — + „ geringe,
— + + „ deutliche,
+ + + „ sehr deutliche Reaktion

Die Harnproben hatten an der Luft stehend nachgedunkelt. Proben aus dem jeweils steril entnommenen Harn wurden mit Bacterium pyocyaneum infiziert; sie zeigten alle nach 1-2 Tagen deutliches Wachstum.

Reaktionen des Tierkörpers: Das Tier reagierte auf das Resorcin und noch mehr auf die Formalinjektion mit einer Steigerung von Temparatur, Puls und Atmung:

Zeit:	T.	P.	A.
h. m.			
7^{50}	38,0	90	16
8^{25}	38,9	112	28
8^{45}	39,0	134	28
9—	39,15	120	28
9^{40}	39,2	124	28
10^{05}	39,3	104	22
10^{15}	39,2	106	24
11—	39,05	104	24
11^{10}	39,2	124	20
11^{25}	39,4	122	20
11^{55}	39,7	126	20
2^{45}	39,3	144	18
3^{45}	39,1	120	18
4^{50}	39,0	128	18
6—	39,0	128	18

Am Vormittag zeigte sich das Tier etwas apathisch, am Mittag wieder lebhafter, und gegen Abend stellte sich wieder Appetit ein. Der Kot war am Vormittag blutig und weich, am Nachmittag wieder normal.

Wenn auch in diesem Versuch, bei welchem ich Resorcin per os und darauf Formaldehyd intravenös applizierte, der Nach-

weis des Resorcins durch Formaldehyd nicht beeinträchtigt wurde, so ist doch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass nach Einführung des Hetralins in den Tierkörper bei dessen Zersetzung das Formaldehyd mit dem Resorcin gleichsam in statu nascendi ein Kondensationsprodukt leichter eingeht.

2. Versuch zum Nachweis des Resorcins im Blut.

Das defibrinierte Blut im Versuch X verwandte ich in der von Schomacker (29) angegebenen Weise. 25 ccm Blut wurden mit 50 ccm Aqua destill. übergossen, mit $H_2 SO_4$ angesäuert, 12 Stunden in der Wärme bei 38° digeriert, mit 300 ccm absolutem Alkohol übergossen und 24 Stunden der Kälte ausgesetzt; darauf wurde filtriert, der Alkohol auf dem Wasserbade abdestilliert und mit Petroläther und Essigäther ausgeschüttelt. Weder der Verdunstungsrückstand des Petroläthers noch des Essigäthers zeigten positive Reaktionen auf Resorcin.

3. Versuch zum Nachweis von Resorcin im Kot.

Versuch V. 8. X. 05.

No. 2 Schnauzer, $1^1/_2$ Jahre, 11 kg, erhielt wie im Versuch III 0,45 g pro kg, 5 g in toto Hetralin, in Wasser gelöst, eingeschüttet. Die Dosis ertrug das Tier diesmal ohne äusserlich erkennbare Störung des Allgemeinbefindens. Die Nahrung bestand in Milch, Brot und Fleisch.

Am 9. X. 9 h. V. M. wurde ein pechschwarzer Kot von normaler Konsistenz abgesetzt; somit wurde durch die grosse Hetralingabe keine Diarrhoe hier hervorgerufen. 6 g Kot wurden in derselben Weise wie bei dem vorigen Versuch mit Blut behandelt. Der Resorcinnachweis fiel negativ aus.

Andeer (34 und 35) gelang es nicht einmal nach Resorcingaben direkt solches im Kot nachzuweisen.

Das Schicksal des Dioxybenzols im Hetralin nach Einführung des letzteren in den Tierkörper ist somit nicht recht zu erkennen. Dass es mit Formaldehyd ein Kondensationsprodukt bildet, ist sehr wahrscheinlich, sicher aber ist und geht aus dem Versuch III hervor, dass es im Harn als gepaarte Schwefel-

säure (auch Glycuronsäure) auftritt, hier eine acidificierende Wirkung ausübt und so die Abspaltung des Formaldehyds aus seinen Bindungen begünstigt.

4. Ueber das erste Auftreten von Formaldehyd, die Stärke und Dauer seiner Ausscheidung im alkalischen und sauren Harn nach Hetralingaben per os.

Der Bestimmung des Hetralins als Harndesinficiens entspricht es, dass die Abspaltung des Formaldehyds bei ihm eine möglichst energische sein muss. Von dem Formaldehyd werden im Körper, wie Jacobson (36) mitteilt, 31 % durch die Nieren wieder ausgeschieden, das Uebrige wird zu Ameisensäure und Kohlensäure oxydiert, ein Teil auch an Eiweiss gebunden. Auf die teilweise Ausscheidung des Formaldehyds im Harn als Ameisensäure hat schon Pohl (37) aufmerksam gemacht. Im Harn erscheint sodann das Formaldehyd teilweise in freier Form, teilweise verbindet es sich nach den Untersuchungen von Tollens, Weber und Pott (38, 39, 40) zu einer leicht löslichen Verbindung, der Diformaldehydharnsäure, welche das Formaldehyd leicht wieder abgiebt. Eine zweite Verbindung dieser Art die Monoformaldehydharnsäure wurde später erkannt. Auf diesen beiden Verbindungsmöglichkeiten des Formaldehyds mit der Harnsäure beruht die harnsäurelösende Wirkung formaldehydabspaltender Präparate.

Die dritte Bindungsmöglichkeit des Formaldehyds im Harn ist nach Jaffé und Strzyzowski (33) die zu Diformaldehydharnstoff.

Zum Nachweis des freien oder gebundenen Formaldehyds im Harn bediente ich mich der bereits oben erwähnten Formaldehydreaktionen. Bezüglich ihrer Verwendbarkeit möchte ich noch erwähnen, dass die Reaktion nach Jorrissen sehr zuverlässig, zum Nachweis kleinerer Mengen von Formaldehyd jedoch ungeeignet ist weil die Harnfarbe hier die Deutlichkeit der Reaktion zu sehr stört.

Die saure Phenylhydrazinprobe soll zum Nachweis freien Formaldehyds dienen (41); sie muss jedoch dann sofort nach dem Zusatz der Schwefelsäure eintreten; auch muss die Untersuchung des Harns wie überhaupt möglichst bald nach dem Absetzen vorgenommen werden,

Die Ferricyankaliumprobe ist nur dann als einwandsfrei zu betrachten, wenn sofort eine carmin- oder stark zinnoberrote Färbung eintritt; entwickelt sich letztere allmählich aus Orange,

so ist diese Reaktion nicht absolut für das Vorhandensein von gebundenem Formaldehyd sprechend, da, wie ich beobachtet habe, auch der formaldehydfreie Harn mit der Ferricyankaliumprobe die gleiche Erscheinung zeigen kann.

Die Nitroprussidprobe ist nur positiv, wenn eine grüne oder blaue Färbung eintritt; das Auftreten der Legalschen Reaktion spricht nicht unbedingt für einen Formaldehydgehalt des Harns; denn auch normaler Harn zeigt, wie erwähnt, die rotbraune Farbe nach der Nitroprussidprobe.

Um bei dieser Unbestimmtheit der Formaldehydreaktionen auch die letzten Spuren von Formaldehyd im Harn nachweisen zu können, sterilisierte ich denselben nach dem Ansäuren mit verdünnter Schwefelsäure in strömendem Wasserdampfe. Ich unterwarf gewöhnlich 40—50 ccm mit 2—3 ccm $H_2 SO_4$ angesäuerten Harns einer teilweisen Destillation (20—30 ccm).

Auerbach und H. Barschall (42) haben nun neuerdings durch genaue Analysen gezeigt, dass bei Destillieren von Formaldehydlösungen der Rückstand stets reicher, das Destillat stets ärmer, an Formaldehyd ist als die ursprüngliche Lösung, dass man somit nur einen Bruchteil der ursprünglich vorhandenen Formaldehydmenge überdestillieren kann. Doch ist nach demselben Autor die Empfindlichkeit der Formaldehydreaktion so gross, dass der überdestillierte Anteil in den meisten Fällen zum Nachweis genügen wird. Diese neuesten Angaben dürfen für die Beurteilung meiner nachfolgenden Untersuchungen nicht ausser Acht gelassen werden.

Für den Nachweis des Formaldehyds im Destillat fand ich folgende Reaktionen für geeignet:

1. Jorissen'sche Reaktion: In der Seite 4 angegebenen Weise ausgeführt.
2. Reaktion nach Judd (43): 10 oder 5 ccm des Destillates versetzt man mit dem gleichen Volumen 5 % Natronlauge, welche 1—2 Tropfen einer alkoholischen Phloroglucinlösung enthält.

   Bei Gegenwart von Formaldehyd zeigte sich eine über 12 Stunden bestehenbleibende rosarote Färbung.
3. Methode von Riegler (44): Einige Centigramm Phenylhydrazinchlorhydrat und einige Tropfen Aetznatron bewirkten nach kurzer Zeit schöne rosarote Färbung.

4. Ferricyankaliumprobe: In der gleiche Weise, wie im Harn selbst ausgeführt, erzeugte sofort schöne scharlach- bis kirschrote Farbe.
5. Methode von Thomson (45): Zu 10 ccm des Destillates setzte ich drei Tropfen einer ammoniakalischen Silberlösung hinzu und stellte die Probe 12—18 Stunden in einen dunklen Raum. Bei Anwesenheit von Formaldehyd schwärzte sich die Flüssigkeit.
6. Methode von Denigès (45): Eine durch wenig schweflige Säure (Natriumsulfit) entfärbte Fuchsinlösung nimmt eine violette Färbung an, die auf Zusatz einiger Tropfen schwefliger Säure nicht verschwindet.

Diese Proben erwiesen sich jedoch nicht als unbedingt zuverlässig. Ganz einwandsfrei und scharf fand ich nur die Reaktion nach Jorissen. Weniger genau war die Probe nach Judd; von ihr ist angegeben, dass die Rosafärbung in einer formaldehydhaltigen Flüssigkeit 12 Minuten lang bestehen bleibe, um dann in ein beständiges gelblich braun überzugehen. Dagegen fand ich, dass bei starkem Formaldehydgehalt noch nach zwölf Stunden schwache Rosafärbung des Destillats bestand.

Während die saure Phenylhydrazinprobe sich im Destillat als ungeeignet erwies und die Nitroprussidprobe sowohl im formaldehydhaltigen als auch freien Destillat die rotbraune Farbe der Legal'schen Reaktion zeigte, fand ich die Ferricyankaliumprobe als zum Nachweis des Formaldehyds auch im Destillat für ganz geeignet. Sie lieferte bei relativ starkem Formaldehydgehalt (Jorissen 1 Zinnober 1 // 1 bis 1 // o) sofort stark carminrote Färbung (28 // i bis 29 // n); bei geringerem Formaldehydgehalt traten Reaktionen ein wie 1 Zinnober 1 // 1 und 2 // n und o, und wenn Jorissen noch Rosaschimmer zeigte, war die Ferricyankaliumprobe mit den Farbentönen 3 // o, 4 // o oder 4 // n u. a. negativ. Die Empfindlichkeit dieser Reaktion war also eine geringere als die nach Jorrissen, doch lieferte sie bei sofort eintretenden hoch carminroten oder Zinnober-Farbentönen den unzweideutigen Beweis des Vorhandenseins von Formaldehyd.

In formaldehydfreiem Harn blieb auch die Reaktion in manchen Fällen absolut negativ, in anderen zeigte sich nach wenigen Minuten oder $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde eine leichte Zinnoberfärbung (3 // o, 2 // m).

Die Methode nach Riegler gab sofort, bei geringerem Formaldehydgehalt nach einigen Minuten schwache Rosafärbung (1 // s), die nach $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde intensiveren Farbenton annahm (1 // m, 30 // n). Auch das Destillat formaldehydfreien Harns, sowie destilliertes Wasser lieferten eine Rosafärbung, doch weniger intensiv und deutlich.

Die beiden letztgenannten Methoden fand ich am wenigsten zuverlässig: nach Thomson trat im Destillat formaldehydfreien Harns sogar sofort eine Schwarzfärbung ein, in manchen Fällen auch ein Niederschlag von Chlorsilber.

Nach Denigès trat schöne violettrote Färbung ein, doch zeigte auch das Destillat formaldehydfreien Harns, sowie dieser Harn selbst und destilliertes Wasser violette Färbung, die auch nach Zusatz einiger Tropfen schwefliger Säure bestehen blieb.

a. Stärke und Dauer des Formaldehydnachweises im alkalischen Harn nach Hetralingaben per os.

Die Versuche hierüber habe ich an der Hand zweier Tabellen in diesem Kapitel dargelegt, teilweise muss ich auf andere Versuche oder Tabellen verweisen. Um den Harn bei Hunden alkalisch zu erhalten, wurden die Tiere mit Magermilch und Brot gefüttert. Nach interner Verabreichung des Hetralins ging in manchen Fällen infolge der acidificierenden Wirkung des Resorcins der Harn eine saure oder neutrale Reaktion ein.

Der Nachweis freien Formaldehyds war in alkalischem Harn schon bei einer Dosis von 0,01 pro kg Körpergewicht nach drei Stunden möglich (Tabelle 38, Versuch XIII.) Nach fünf Stunden war im Harn selbst Formaldehyd nicht mehr nachzuweisen.

Dieselben Reaktionen zeigte bei der gleichen Dosis von 0,01 pro kg auch der ammonikalische Harn (Tabelle 38, Versuch XIV.) Mit der Zunahme der Hetralindosis stieg auch die Stärke und Dauer der Formaldehydausscheidung im Harn.

Bei einer Dosis von 0,02 pro kg war noch nach 20 Stunden im Harn geringe Formaldehydreaktion zu konstatieren. (Tabelle 38, Versuch XI.)

Bei 0,03 pro kg war nach 70 Minuten der Formaldehydnachweis noch nicht einwandsfrei zu erbringen, nach drei Stunden und 20 oder 30 Minuten aber war mit deutlicher Reaktion freies Formaldehyd nachweisbar, nach $6^1/_2$ und 7 Stunden ebenfalls, aber mit geringerer Reaktion.

Nach 1 mal 24 Stunden traten im Harn selbst noch schwache Reaktionen auf Formaldehyd ein. (Tabelle 38, Versuch XV und XVI).

Bei einer zehnfachen Dosis = 0,3 pro kg konnte ich im Versuch II. Seite 26 in dem innerhalb der nächsten 12 Stunden abgesetzten Harn mit sehr deutlichen Reaktionen freien Formaldehyd nachweisen; auch trat hier, entsprechend dem grossen Formaldehydgehalt, die Nitroprussidprobe zum ersten Male positiv auf. Nach 36 Stunden zeigte das Filtrat mit Jorissen und Ferricyankalium noch geringe Reaktion. Einen weiteren Aufschluss über die Formaldehydausscheidung im alkalischen Harn bei 0,3 pro kg Körpergewicht soll der folgende Versuch geben.

Versuch VI. 27. XI. 05.

Nr. 4, Fox, $1^1/_2$ Jahre, 10 kg ♀, erhielt 2 h. 45 m. Hetralin 0,3 pro kg, 3,0 in toto mit der Schlundsonde.

Die Ergebnisse über die Stärke und Dauer der Nachweisbarkeit von Formaldehyd in den zu verschiedenen Zeiten mit dem Katheter entnommenen Harnproben und ihrer Destillate habe ich auf Tabelle 10 aufgezeichnet.

TABELLE 10.

Versuch VI, 27. XI. 2 h. 45.

Urin Nr.	Zeit der Harnentnahme postapplicat Mon. Tag.	Std Min.	Formaldehydreaktion im Harn: Jorissen	Saure Phenylhydrazinprobe	Ferricyankaliumprobe	Nitroprussidprobe	Formaldehydreaktion im Destillat des Harns: Jorissen	Judd.	Ferricyankalium
I	27.XI	5—	2 Zinn. 2//o + + +*	29carm.29//h — + +	1 zinn. i // l (15′) 22 i — — —	blaugrüne + + +	—	—	—
II	28.XI	8^{85}	— — —	4 Orange4//k — — —	4 Orange 4//n (30′) 2//n — — ?	Leg. Reakt.	—	—	—
III	28.XI	5^{20}	— — —	5 Orange5//m — — —	3 Zinn. 3//o 2//n (45′) — — ?	»	2 Zinn. 2//t — — +	2 Zinn. 2//u — — +	2 Zinn. 2// — + +
IV	29.XI	6—	— — —	— — —	3 Zinn. 3//q (60′) 2//o — — ?	»	— — —	— — —	4//n — —

* bedeutet — — — keine Reaktion
— — ? fragliche Reaktion
— — + geringe Reaktion
— + + deutliche Reaktion
+ + + sehr deutliche Reaktion.

Die nach $2^1/_4$ Stunden ausgeführten Reaktionen — auch die Nitroprussidprobe ist positiv — sprechen deutlich für das Vorhandensein freien Formaldehyds. Nach 17 Stunden aber war die Ferricyankaliumprobe schon nicht mehr einwandsfrei und die anderen negativ. Um daher auch die kleinsten Mengen von Formaldehyd im Harn nachweisen zu können, unterzog ich denselben jeweils der Destillation im strömenden Wasserdampfe. Auf diese Weise erhielt ich nach 28 Stunden im Destillat noch geringe Formaldehydreaktionen, die aber nach 2 mal 24 Stunden nicht mehr auftraten.

Die Dauer des höchstmöglichen Formaldehydnachweises bei einer an das Toxische grenzenden Dosis zeigt nachstehender Versuch.

Die Harnproben wurden dem Schnauzer Nr. 2 aus Versuch III Seite 28 mit dem Katheter oder im Harnkasten entnommen und das Filtrat, bei den späteren Proben das Destillat auf Formaldehyd geprüft.

Vom sechsten Tage nach Verabreichung des Hetralins an zeigten die Harnproben deutlich amonikalische Harngährung. * Die Tabelle 11, Seite 40, gibt übersichtlich die Ergebnisse dieser suchungen wieder.

* Hündinnen wurde zwecks leichterer aseptischer Harnentnahme das Perineum teilweise gespalten, sodass die Harnröhrenöffnung mehr oder weniger frei vorlag. Die Tiere acquirierten jedoch teilweise eine Cystitis ammoniacalis.

TABELLE 11. Versuch III. 13. VIII. 9 h. 45 m.

Urin Nr.	Zeit des Harnabsatzes Mon. Tag	Std. Min.	Reaktion des Harns	Reaktionen auf Formaldehyd im Filtrat: Jorissen	Saure Phenylhydrazinprobe	Ferricyankaliumprobe	Nitroprussidprobe	Reaktionen auf Formaldehyd im Destillat des Harns: Jorissen	Judd	Riegler	Ferricyankaliumprobe	Thomson	Denigès
I	13. VIII.	11^{45}	alkal.	sehr deutl.	sehr deutl.	sehr deutl.	deutlich						
II	13. VIII.	6^{30}	schwach alkal.	deutlich	sehr deutl.	sehr deutl.	deutlich						
III	13./14. VIII.		schwach sauer	?	sehr deutl.	sehr deutl.	Legal. Reakt.						
IV	14 VIII	3—	schwach sauer	negativ	deutlich	deutlich	Legal. Reakt.						
V	15. VIII.	V.M.	amphoter	negativ	sehr deutl.	deutlich	Legal. Reakt.	deutlich (3//n)	deutlich	deutlich	deutlich	gering	
VI	15./16. VIII.		amphoter	negativ	deutlich	deutlich	Legal. Reakt.						
VII	16 VIII.	V.M.	schwach sauer	negativ	deutlich	deutlich	Legal. Reakt.						
VIII	17. VIII.	V.M.	schwach sauer	negativ	gering	gering	Legal. Reakt.						
IX	17. VIII.	N.M.	schwach sauer	negativ	gering	gering	Legal. Reakt.	gering	gering		deutlich	?	deutlich
X	17./18. VIII.		schwach alkal.	negativ	gering	gering	Legal. Reakt.						
XI	18. VIII.	N.M.	alkal.	negativ	negativ	fraglich	—	deutlich (3//q)	gering	gering	sehr deutl.	gering	deutlich
XII	19 VIII	V.M.	ammoniak.	negativ	negativ	negativ	—	gering (3//t)	gering	—	deutlich	—	—
XIII	19 VIII.	N.M.	ammoniak.	—	—	negativ	—	deutlich (3//m)	deutlich	gering	deutlich	deutlich	deutlich
XIV	20. VIII	V.M.	ammoniak.	—	—	negativ	—	deutlich (3//o)	deutlich	deutlich	deutlich	gering	—
XV	20. VIII.	N.M.	ammoniak.					deutlich (3//q)	gering	gering	deutlich	deutlich	deutlich
XVI	20./21. VIII.		schwach ammoniak					gering (3//s)	gering	gering	?	gering	—
XVII	21. VIII	M.	schwach ammoniak					negativ	negativ	negativ	negativ	—	—

Nach der Tabelle 11 waren auch bei einer Dosis von 0,45 pro kg, die Formaldehydreaktionen am deutlichsten nach zwei Stunden.

Nach 18 bis 24 Stunden etwa war die Reaktion nach Jorissen bereits fraglich und nach 29 Stunden negativ. Dagegen war mit der salzsauren Phenylhydrazinprobe und der Ferricyankaliumprobe im Filtrat Formaldehyd bis zum fünften Tage nach der Applikation nachweisbar: vom sechsten Tage ab konnte ich nur noch im Destillat des Harns Formaldehyd feststellen und kam so zu dem Ergebnis, dass bei einer Hetralingabe von 0,45 pro kg Formaldehyd 7—8 mal 24 Stunden im Harn ausgeschieden wurde.

Bei dieser langen Dauer der Formaldehydausscheidung im Harn dürfte zu berücksichtigen sein, dass das Tier in dem Harnkasten seinen Urin zurückhielt und der Harn in der konzentrierten Form deutlicher und auf längere Zeit den Formaldehydnachweis lieferte.

Im Versuch IX Seite 51 habe ich bei einer Dosis von 0,5 Hetralin pro kg, obwohl das Tier sich erbrochen hatte, am zweiten und dritten Tage im Destillat des Harns noch Formaldehyd nachgewiesen.

b. Erstes Auftreten, Stärke, und Dauer der Nachweisbarkeit des Formaldehyds im sauren Harn nach Hetralingaben per os.

Die Versuche hierüber machte ich teils im sauren Hundeharn, wobei die Tiere mit Fleisch und Brot gefüttert wurden, teils an meinem eigenen Harn. Es zeigte sich auch hier, dass die Dauer der Ausscheidung und die Stärke des Nachweises von Formaldehyd abhängig ist von der pro kg Körpergewicht verabreichten Dosis Hetralin.

Der einwandsfreie Nachweis von Formaldehyd fing im sauren Harn ebenfalls bei einer Hetralindosis von 0,01 pro kg Körpergewicht an. Bei 0,005 pro kg ergab die saure Phenylhydrazinprobe in dem nach zwei Stunden entnommenen Harn 3 Zinnober 3 // i, welcher Farbenton nach 5—10 Minuten in 2 Zinnober 2 // k, (hellrotbraun) überging, somit für freien Formaldehyd nicht mehr beweisend war. Die Jorissen'sche Reaktion fiel ganz negativ aus und die Ferricyankaliumprobe war nicht einwandsfrei. (Tabelle 38. Versuch XVII.)

Versuch VII. 23. XI. 05.

Nr. 1, Dachshund, weiss und schwarz, ♀ $1^3/_4$ Jahre, 6 kg, erhielt 12 h. M. Hetralin, 0,01 pro kg — 0,06 in toto — mit der Schlundsonde. Darauf wurden zu verschiedenen Zeiten mit dem Katheter Harnproben entnommen und auf Formaldehyd untersucht. Tabelle 12 soll die Ergebnisse kurz vor Augen führen.

TABELLE 12. Versuch VII. 23. XI. 12 h. M.

Urin Nr.	Zeit der Harnentnahme Mon. Tag	Std. Min.	Formaldehydreaktionen im Harn: Jorissen	Saure Phenylhydrazinprobe	Ferricyankaliumprobe	Nitroprussidprobe	Formaldehydreaktionen im Destillat des Harns: Jorissen	Judd.	Ferricyankalium
I	23. XI.	3	sofort 6 Orange 6//o — — +	26 Purp. 26//e + + +	3 Zinn. 3//n (20′) 2//m — + +	Leg. Reakt.			
II	23. XI.	6—	langsam 6 Orange 6//r — — ?	26 Purp. 26//g + + +	3 Zinn. 3//n (20′) 1//m — + +	Leg. Reakt.			
III	24. XI.	8^{30}	7 Gelb 7//r — + +	4 Orange 4//f — — —	4 Orange 4//o (20′) 3//n (60′) 1//1 — — +	Leg. Reakt.	2 Zinn. 2//u — — +	— — —	4 Orange 4// — — —
IV	24. XI.	2^{15}	7 Gelb 7//t — — —	4 Orange 4//d — — —	4 Orange 4//p (20′) 3//n (35′) 3//1 — — ?	Leg. Reakt.	3 Zinn. 3//u	— — —	4//n — —

Wie die saure Phenylhydrazinprobe zeigt, war freier Formaldehyd nach drei und noch nach sechs Stunden nachzuweisen; nach 20 Stunden war der Nachweis von Formaldehyd im Harn nicht mehr deutlich; aber noch nach 26 Stunden gab das Destillat geringe Reaktionen auf Formaldehyd.

Bei einer Dosis von 0,015 erhielt ich im Versuch 1 nach einer Stunde und noch mehr nach $2^1/_2$ Stunden sehr deutlichen Nachweis von freiem Formaldehyd; auch die Nitroprussidprobe war nach $2^1/_2$ Stunden positiv. Nach 24 Stunden gab die saure Phenylhydrazinprobe und die Ferricyankaliumprobe noch deutliche, nach zwei mal 24 Stunden die letztere geringe Reaktionen auf Formaldehyd, und nach drei mal 24 Stunden konnte ich dasselbe noch im Destillat mit geringer Reaktion nachweisen.

Bei 0,02 pro kg erhielt ich nach $2^1/_2$ und 4 Stunden beinahe die gleich intensiven Formaldehydreaktionen; nach 19 Stunden war die Jorissen'sche Reaktion und die Ferricyankaliumprobe gering. (Tabelle 38, Versuch XVIII).

Aus den bis jetzt mitgeteilten Versuchen geht hervor, dass die stärkste Reaktion auf Formaldehyd zwischen 2 und 6 Stunden post applicationem auftritt, abhängig von den Mengen des verabreichten Hetralins. Um aber das erstmalige Auftreten von Formaldehyd im Harn, die Stärke und Dauer seiner Ausscheidung genau feststellen zu können, machte ich an mir selbst folgenden Versuch:

Versuch VIII. 29. X. 05.

Ich nahm 9 h. V. M. Hetralin 0,03 pro kg — 2,0 in toto — in 200 ccm Wasser gelöst, auf nüchternen Magen ein, nachdem ich zuvor Harn von normaler Beschaffenheit gelassen hatte. Darauf urinierte ich anfangs in ganz kurzen Zwischenräumen, nach einer Stunde in weiteren, und untersuchte die jeweiligen Harnproben sämtlich im Harn selbst oder im Destillat auf Formaldehyd, bis dieser auch mit der Jorissen'schen Reaktion im Destillat nicht mehr nachweisbar war.

Auf Tabelle 13 ist bei den einzelnen Harnproben, welche fortlaufend nummeriert sind, die Zeit ihrer Ausscheidung, ihre Reaktion gegen Lakmuspapier und die Intensität der mit ihnen ausgeführten Formaldehydreaktionen angegeben.

TABELLE 13.
Versuch VIII. 29. X. 05., 9 h. V. M.

Urin Nr.	Zeit des Harnens Mon. Tag	Zeit des Harnens Std. Min.	Harnreaktion	Formaldehydreaktionen im Harn: Jorissen	Saure Phenylhydrazinprobe	Ferricyankaliumprobe	Nitroprussidprobe	Formaldehydreaktionen im Destillat des Harns: Jorissen	Judd	Riegler	Ferricyankalium
I	29.X.	9^{10}	sauer	7 Gelb 7//r — — —	negativ	negativ	negativ	1 Zinn. 1//u — — +	2 Zinn. 2//u — — +	— — —	— — —
II	»	9^{20}	sauer	»	»	»	»	1 Zinn. 1//l + + +	2 Zinn. 2//t — + +	sofort 1 Zinnober 1//r — + +	29 Carm. 29//k + + +
III	»	9^{35}	sauer	5 Orang. 5//o — — +	26 Purp. 26//e — + +	30 Carm. 30//k + + +	»	»	2 Zinn. 2//n + + +	1 Zinn. 1//q + + +	28 Carm. 28//i + + +
IV	»	9^{45}	sauer	4 Orange 4//n — + +	26 Purp. 26//d + + +	29 Carm. 29//l + + +	»	—	—	—	—
V	»	11—	sauer	3 Zinn. 3//o + + +	26 Purp. 26//b + + +	28 Carm. 28//i + + +	grünbraun	—	—	—	—
VI	»	12^{30}	stark sauer	3 Zinn. 3//m + + +	25 Purp. 25//c + + +	»	blau	—	—	—	—
VII	»	1^{30}	stark sauer	»	»	»	blaugrün	—	—	—	—
VIII	»	3^{30}	sauer	3 Zinn. 3//n + + +	25 Purp. 25//e + + +	28 Carm. 28//k + + +	»	—	—	—	—
IX	»	5^{45}	alkal.	7 Gelb 7//p — — —	28 Carm. 28//i — + +	30 Carm. 30//l — + +	Leg.Reakt.	1 Zinn. 1//l + + +	2 Zinn. 2//o + + +	1 Zinn. 1//s + +	29 Carm. 29//k + + +
X	»	6^{45}	schw, alkal.	7 Gelb 7//r — — —	29 Carm. 29//k — — +	2 Zinn. 2//n — — ?	»	1 Zinn. 1//m + + +	2 Zinn. 2//o + + +	1 Zinn. 1//t — — +	»

XI	»	7^{45}	schw, sauer	6 Orange 6//s — — +	29 Carm. 29//h — — ?	sofort 1 Zinnober 1//m — + +	»	—	—	—	—
XII	»	10^{30}	sauer	6 Orange 6//r — — +	»	»	»	—	—	—	—
XIII	30.X.	8 V.M.	sauer	5 Orange 5//p — — +	26 Purp. 26//e + + +	29 Carm. 29//k + + +	»	1 Zinn. 1//l + + +	2 Zinn. 2//r — + +	1 Zinn. 1//u — — +	28 Carm. 28//i + + +
XIV	»	9^{45}	sauer	7 Gelb 7//t — — —	1 Zinn. 1//h — — ?	3 Zinn. 3//m — — ?	»	2 Zinn. 2//q — + +	2 Zinn. 2//s — + +	(2′) 2 Zinn. 2//t — — +	1 Zinn. 1//l — + +
XV	»	12—	sauer	»	4 Orange 4//f — — —	2 Zinn. 2//m — — +	»	3 Zinn. 3//q — + +	3 Zinn. 3//r — — +	(2′) 3 Zinn. 3//u — — +	1 Zinn. 1//m — + +
XVI	»	3^{45}	sauer	»	»	2 Zinn. 2//o — — +	»	3 Zinn. 3//s — — +	3 Zinn. 3//u — — +	3 Zinn. 3//t — — +	2 Zinn. 2//n — — +
XVII	»	6^{45}	amphoter	»	»	4 Orange 4//o — — —	»	»	»	— — —	2 Zinn. 2//o — — +
XVIII	»	8^{10}	sauer	—	—	—	—	3 Zinn. 3//t — — +	3 Zinn. 3//u — — +	»	3 Zinn. 3//n — — ?
XIX	»	10^{30}	sauer	—	—	—	—	3 Zinn. 3//v — — +	— — —	»	5 Orange 5//n — — —
XX	31.X.	8 V.M.	sauer	7 Gelb 7//q — — —	4 Orange 4//k — — —	(10′) 3 Zinn. 3//n — — —	Leg. Reakt.	3 Zinn. 3//v — — +	3 Zinn. 3//v — — +	»	»
XXI	»	12—	sauer	»	»	»	»	negativ	negativ	»	»

Es bedeutet: — — — keine Reaktion
— — ? fragliche Reaktion
— — + geringe Reaktion
— + + deutliche Reaktion
+ + + sehr deutliche Reaktion.

Wie aus der vorstehenden Tabelle 13 ersichtlich ist, konnte ich schon nach 10 Minuten durch Destillation des Harns Formaldehyd in demselben nachweisen; nach 20 Minuten traten im Destillat schon sehr deutliche Reaktionen ein, und nach 35 Minuten war es bereits möglich, auch im Harn selbst mit den ersten drei Reaktionen Formaldehyd nachzuweisen. Die Stärke dieser Reaktionen nahm sodann zu; nach 2 Stunden fiel auch die Nitroprussidprobe positiv aus und nach $3^1/_2$ Stunden war im Urin VI die grösste Intensität der Formaldehydreaktionen erreicht, im Urin VI hat die stärkste Formaldehydabspaltung stattgefunden. Bis zum Urin VIII, der nach $6^1/_2$ Stunden gelassen wurde, waren die Reaktionen noch sehr deutlich, darauf nahm ihre Intensität allmählich ab, die Nitroprussidprobe wurde wieder negativ, resp. sie zeigte die Farbe der Legal'schen Reaktion. Urin XIII ist als Morgenharn konzentriert, daher trat in ihm der Formaldehydnachweis noch einmal deutlicher hervor, aber schon in dem $1^3/_4$ Stunden darauf abgesetzten Harn war Formaldehyd nicht mehr einwandsfrei nachzuweisen. Von jetzt ab wurden alle Harnproben der Destillation in strömendem Wasserdampfe unterworfen, und man kann aus der Tabelle 13 ersehen, dass auch bei diesen kleinsten Formaldehydmengen im Harn, wenn sie überdestilliert wurden, eine Abnahme in der Deutlichkeit des Formaldehydnachweises bei den nachfolgenden Harnproben zu beobachten war. Nach 48 Stunden war mein Harn wieder frei von Formaldehyd.

Der scheinbare Widerspruch, dass im Versuch I bei der halb so grossen Hetralindosis noch nach dreimal 24 Stunden Formaldehyd im Harn nachzuweisen war, ist damit zu erklären, dass ich im Versuch VIII einerseits das Hetralin auf nüchternem Magen eingenommen habe, sodass es leichter zersetzt und resorbiert werden konnte, und dass andererseits durch das häufige Urinieren der von der Niere ausgeschiedene Formaldehyd alsbald wieder aus der Blase entfernt wurde und so mit einer zunehmenden Harnkonzentration eine solche des Formaldehyds nicht vor sich gehen konnte.

In allen Harnproben konnte ich keine weiteren Veränderungen feststellen, weder eine Zunahme der Harnmenge, noch das Auftreten von Eiweiss. Besonders stark dunkelte nur die Harnprobe V nach einigen Tagen, an der Luft stehend, nach. Die Dosis wurde von mir auch gut ertragen.

Im Versuch XII gab ich einem Hund 0,2 pro kg in fraktionierter Dosis; drei Stunden darnach war mit allen vier Reaktionen freier Formaldehyd deutlich nachweisbar. (Siehe Tabelle 38.)

TABELLE 14. Versuch X. 16. X. 8 h. 30 m.

Urin Nr.	Zeit der Harnentnahme Tag Mon.	Std.	Min.	Harnreaktion	Formaldehydreaktionen im Harn: Jorissen	Saure Phenylhydrazinprobe	Ferricyankaliumprobe	Nitroprussidprobe	Formaldehydreaktionen im Destillat: Jorissen	Judd	Ferricyankalium
I	16. X.	9	15	sauer	deutl.	sehr deutlich	sehr deutlich	deutl.	sehr deutl.	sehr deutl.	sehr deutlich
II	16. X.	3	—	sauer	sehr deutl.	sehr deutlich	sehr deutlich	sehr deutl.			
III	17. X.	9	—	sauer	deutl.	sehr deutlich	sehr deutlich	Leg. Reakt.			
IV	17. X.	4	—	sauer	deutl.	deutlich	deutlich	»			
V	18. X.	2	—	sauer	keine	keine	gering	»	deutl.	gering	keine
VI	19. X.	9	—	sauer					gering	keine	keine
VII	20. X.	9	—	sauer					keine	keine	keine

Die Tabelle 14 soll die Formaldehydausscheidung im Harn des Hundes Nr. 6 aus Versuch X, Seite 52 darlegen, dem Hetralin 0,5g pro kg eingegeben wurde. Obwohl dem Tier etwa eine halbe Stunde darnach der Magen ausgespült wurde, war im Harn noch Formaldehyd nach dreimal 24 Stunden nachweisbar. Auch erhielt ich hier $^3/_4$ Stunden post applicationen geringere Reaktionen als nach $6^1/_2$ Stunden. Auch nach 24 Stunden war der Formaldehydnachweis im Harn selbst noch deutlich zu erbringen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zusammenfassend stellte ich fest:

Hetralin wird im Körper sehr leicht und schnell zerlegt und Formaldehyd aus ihm abgespalten, der nach seiner Resorption durch die Nieren zum Teil wieder allmählich ausgeschieden wird.

Der Formaldehyd ist bei internem Hetralingebrauch bereits nach 10 Minuten im Harn nachzuweisen.

Die Stärke, mit welcher der Formaldehyd im Harn durch die genannten Reaktionen nachzuweisen ist, sowie die Dauer

seiner Ausscheidung im Harn ist abhängig von der Menge des in den Tierkörper eingeführten Hetralins, von der Reaktion des Harns und von seiner Konzentration.

Saure und konzentrierte Urine liefern viel deutlichere Formaldehydreaktionen als alkalische und ammoniakalische und solche von niederem spezifischen Gewicht.

Zwischen 2—6 Stunden post applicationem treten im Harn die deutlichsten Formaldehydreaktionen auf.

Im sauren Harn ist Formaldehyd längere Zeit nachweisbar als im alkalischen.

Die Dauer der Formaldehydausscheidung im Harn schwankt bei therapeutischen Dosen von Hetralin 0,01 bis 0,03 pro kg, zwischen ein bis dreimal 24 Stunden; bei höheren Dosen ist die Ausscheidung eine noch längere.

5. Nachweis von Formaldehyd im Kot.

Von dem Kot aus Versuch V, Seite 33 wurden 3 g in 50 ccm Aqua destill. verrührt, mit $H_2 SO_4$ angesäuert, und der Destillation im strömendem Wasserdampfe unterworfen.

Im Destillat erhielt ich folgende Reaktionen:

1. Jorissen — gering,
2. Riegler — gering,
3. Ferricyankalium — fraglich,
4. Thomson — deutlich.

Somit ist es wahrscheinlich, dass bei grossen Gaben von Hetralin per os trotz seiner leichten Zersetzlichkeit geringe Mengen von Formaldehyd auch mit dem Kot ausgeschieden werden.

6. Nachweis von Formaldehyd in der Milch.

Im Versuch III, Seite 28, bekam eine bereits in der 7. Woche der Laktation stehende Hündin am 13. VIII., 9 h 45 m, 0,45 pro kg Körpergewicht Hetralin per os.

Nach zwei Stunden, also 11,45 h, wurden durch Ausmelken mit Mühe noch ca. 20 ccm Milch I gewonnen, die ich auf Formaldehyd untersuchte. Dazu bediente ich mich der von Seligmann (45) neuerdings vorgeschlagenen Methode und destillierte weiterhin zur Kontrolle den kleinen Rest im strömenden Wasserdampfe über.

Seligmann hat nachgewiesen, dass bei Anwendung des Schiff'schen Reagens in gekochter und wieder abgekühlter wie in roher Milch die violettrote Färbung durch die in der Milch vorhandenen Eiweisskörper, besonders das Caseïn und Alkalialbumniat, weniger Serumalbumin und Lactalbumin bedingt wird. Schaltet man also diese reagierenden Eiweisskörper der Milch aus, d. h. die Fuchsinreaktion der Milch durch Säurezusatz, so muss, um das Formalin in der Milch nachzuweisen, dieses Formalin noch reagieren. Die Reaktion nach Seligmann will also das zeitraubende Destillieren der Milch überflüssig machen.

Formaldehydnachweis in Milch I.

Zwei Reagensröhrchen wurden mit je 5 ccm Hundemilch gefüllt: A mit gewöhnlicher Rohmilch, B mit Milch I. Beide wurden mit 2—3 Tropfen verdünnter $H_2 SO_4$ angesäuert und mit je 1 ccm durch wenig Natriumsulfit gerade entfärbte Fuchsinlösung versetzt. B nahm sofort intensive rotviolette Färbung an, während bei A nach einer halben Stunde ein leichter bläulicher Farbenton entstand, der nach ca. 10—15 Minuten in einen leicht blauvioletten überging.

Im Destillat der angesäuerten und im strömenden Wasserdampfe überdestillierten Milch I erhielt ich folgende Reaktionen:

1. Jorissen — gering, (rosaschimmer),
2. Ferricyankalium — deulich, (carmin),
3. Nitroprussid — Leg. Reakt.,
4. Thomson — gering.

Ich erhielt in der Folge noch drei weitere Milchproben von der Hündin, doch leider nur noch zwei Tage lang und in so geringer Menge, dass ich sie jeweils mit Aqua destill. verdünnen musste.

Milch II, 13. VIII., 6 h 30 abends.

Nach Seligmann: Nach 1—2 Minuten schön rosaviolett.

Milch III. 15. VIII., 6 h abends.

Seligmann: Nach ca. 5 Minuten trat blassrosaviolette Färbung ein.

Milch IV. 15. VIII. 3 h.

Seligmann: Nach 5—10 Minuten schwach positiv.

Diese Untersuchungen sprechen deutlich für das Vorhandensein von Formaldehyd in der Milch nach Einführung des Hetralins in den Tierkörper; die Intensität seines Nachweises hält ungefähr gleichen Schritt mit der im Harn. Demnach wird man es unter-

lassen müssen, formaldehydabspaltende Präparate säugenden Tieren zu verabreichen, um durch den in der Milch auftretenden Formaldehyd den Darmkanal der Säuglinge nicht zu schädigen.

7. Verhalten des Formaldehyds im Blut.

Aus den mitgeteilten Ergebnissen über den Nachweis von Formaldehyd in Sekreten und Exkreten nach Hetralingebrauch war schon von vornherein anzunehmen, dass Formaldehyd auch die Blutbahn passieren müsste. Rosenberg (47) teilte noch im Februar 1905 mit, dass der Nachweis von Formaldehyd bisher noch nicht gelungen sei, weil die Untersuchungsmethoden einer qualitativen Bestimmung des im Blut doch grösstenteils gebundenen Formaldehyds Schwierigkeiten bereiteten. Ebenso berichtet Stern auf der 76ten Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte, dass er selbst nach grossen Dosen Urotropin kein Formaldehyd im Blutserum nachweisen konnte.

Um den Nachweis von Formaldehyd im Blut zu erbringen, bediente ich mich einfach der Destillation im strömenden Wasserdampfe und konnte, wie die Versuche IX. und X. zeigen, konstatieren, dass auf diese Weise Formaldehyd im Blut deutlich nachweisbar war.

Versuch IX. 12. X. 05.

Nr. 5, schwarzer Schnauzer, ♂, 11 Wochen, 2700 g, gesund, erhielt Hetralin per os 0,5 pro kg = 1,35 in toto; 9 h 10 V. M., T. 38,4 °. 9 h 40 m wurden durch Aderlass etwa 70 ccm Blut entnommen.

Das Blut hatte dunklere Farbe und neutrale Reaktion.

Zwei Stunden darnach war die Temperatur auf 37,5 ° heruntergegangen, 3 h betrug sie 37,6 °, 6 h 37.8 °. Der Temparaturabfall war auf den Aderlass zurückzuführen. 11 h 30 stellte sich nach 10 Minuten langem, schmerzhaften Würgen heftiges Erbrechen ein. Gegen 4 h N. M. zeigte das Tier wieder Appetit und frass die ihm vorgesetzte Milch bis gegen 6 h langsam aus. Im weiteren Verlauf stellte sich ein starker Durchfall ein; das Allgemeinbefinden jedoch war am nächsten Tage wieder ungestört.

Formaldehydnachweis im Blut.

20 ccm Blutserum und Blutkuchen wurden mit 20 ccm Aqua destill. versetzt mit 2 ccm verdünnter $H_2 SO_4$ angesäuert und in strömendem Wasserdampfe destilliert. Das Destillat ergab folgende Reaktionen:

1. Jorissen — deutlich,
2. Riegler — gering,
3. Ferricyankalium — deutlich,
4. Nitroprussid — Leg. Reaktion,
5. Thomson — deutlich.

Obwohl das Tier sich erbrochen hatte, war in dem schwach alkalischen Harn am zweiten und dritten Tag noch Formaldehyd nachweisbar.

Urin I. vom 13./14. im Harnkasten abgesetzt, mit Kot verunreinigt, schwach alkalisch, kein Eiweiss.

Urin II. am 15. VIII, morgens abgefangen, alkalisch.

Urin III. am 18. VIII. abends abgefangen.

Alle drei Harne wurden mit $H_2 SO_4$ angesäuert, im strömenden Wasserdampfe destilliert und ergaben die auf Tabelle 15 verzeichneten Reaktionen.

TABELLE 15. Versuch IX. 12. X. 9 h. 10.

Urin Nr.	Jorissen	Riegler	Ferricyankalium	Thomson
I.	gering	gering	deutlich	gering
II.	gering	negativ	negativ	gering
III.	negativ	negativ	negativ	negativ

Versuch X. 16. X. 05.

Hund Nr. 6, deutscher Vorstehhund, Brauntiger, ♂, 1 Jahr, 31 kg, gesund, erhielt 8 h 30 m Hetralin 0,5 pro kg = 15,5 in toto per os. Nach 20 Minuten fing das Tier an zu taumeln, überschlug sich nach vorne, darauf stellten sich klonische und tonisch-klonische Krämpfe an den Extremitäten und Kaumuskeln ein, sowie Opistotonus. Erhöhte Körpertemparatur (39,2); Pulsus celer: stossweises Atmen. Etwa eine halbe Stunde anhaltendes, benommenes Sensorium. Speicheln.

Da diese Erscheinungen für Zeichen einer, das Leben des Tieres gefährdenden Phenolvergiftung sprachen, so wurde, um den Hund am Leben zu erhalten, sofort eine Campherinjektion (0,5) gemacht, der Magen ausgespült, und 25,0 g Natrium sulfuricum infundiert. Einerseits, um dem Versuch zu dienen,

andererseits um auch das Herz zu entlassten, wurde 9 h 15 m, also dreiviertel Stunden nach Eingabe des Hetralins, dem Tier der Schwanz koupiert und das Blut aufgefangen. Zu gleicher Zeit wurden auch mit dem Katheter 70 ccm Harn entnommen (Urin I). Ferner wurde dem Tier noch ein Kochsalzklystier verabreicht.

Die Krämpfe dauerten etwa eine Stunde, darauf bekam das Tier drei Stunden lang heftigen Brechhusten, doch ohne zu erbrechen. Um 2 Uhr zeigte es wieder besseres Allgemeinbefinden; es nahm langsam Milch und Brod auf und war gegen seine Umgebung wieder aufmerkam. Als Nachwirkung stellte sich ein drei Tage anhaltender Durchfall ein, der teilweise auf das Hetralin, teilweise auf das Glaubersalz zurückzuführen war.

Blutuntersuchung: Das den Schwanzgefässen entnommene Blut, wurde in einer Porzellanschale sogleich defibriniert. Menge ca. 150 ccm, Reaktion schwach alkalisch, Farbe etwas dunkler rot.

Im Spectralapparat untersucht, gab es deutlich das Oxyhämoglobin-Spectrum und mikroskopisch konnte ich ebenfalls keine Veränderung wahrnehmen.

Formaldehydnachweis.

25 ccm Blut und 25 ccm Aqua destill. mit 2 ccm H_2SO_4 angesäuert werden im strömenden Wasserdampfe destilliert. Im Destillat war

1. Jorissen — sehr deutlich,
2. Judd — sehr deutlich,
3. Riegler — sehr deutlich,
4. Ferricyankalium — sehr deutlich,
5. Nitroprussid — sehr deutlich.
6. Thomson — deutlich,
7. Denigès — sehr deutlich.

Demnach war nach dreiviertel Stunden Formaldehyd im Blut mit den deutlichsten Reaktionen nachweisbar; weniger intensiv waren die Reaktionen im Versuch IX; in welchem das Blut nach einer halben Stunden entnommen war, entsprechend den Verhältnissen im Harn, wie sie aus Versuch VIII hervorgehen.

Die Nitroprussidprobe erwies sich im Destillat des Blutes erst positiv bei einer gewissen Formaldehydkonzentration, bei geringerem Gehalt trat Legal'sche Reaktion ein, wie es in formaldehydhaltigen und -freien Harndestillaten immer der Fall ist.

Die starken Formaldehydreaktionen im Blutdestillat lassen auf einen beträchtlichen Gehalt des Blut an Formaldehyd schliessen,

doch wird nicht aller vom Darm aus resorbierte Formaldehyd als solcher in die Blutbahn gelangen, sondern nach Jacobson (36) wird ein nicht unbeträchtlicher Teil des Formaldehyds im Blute zu Ameisensäure und Kohlensäure oxydiert, ein anderer an Eiweiss gebunden. Dass neben dem gebundenen Formaldehyd im Blut auch nachweisbare Mengen freien Formaldehyds vorhanden sind, hat Rosenberg (48) neuerdings quantitativ nach interner Verabreichung von Formaldehyd-Milchzucker nachgewiesen.

Ueber den Einfluss, den das Formaldehyd auf das Blut ausübt, gehen die älteren und neuen Ansichten sehr auseinander, was Rosenberg (47) richtiger Weise darauf zurückführte, dass kein strenger Unterschied zwischen Formaldehyd und Formalin oder Formol, seiner wässerigen Lösung, gemacht wurde. Formalin ist als ein typisches Blutgift anzusehen nach den Untersuchungen von Pottewin (49), Brusset (50), Bergonzoli (51), Benedicenti (52), Fiegel (53) und Strzyzowski (54); die Wirkung besteht in einer Lösung und Umwandlung des Hämoglobins in Methämoglobin oder Hämatin; auch sollen nach Brusset (50) bei sehr starken Lösungen die Blutkörperchen untauglich werden, den Gasaustausch zu vermitteln. Dagegen fand Fiegel (53) im Blut von Tieren, die er Formaldehyddämpfen aussetzte und sogar damit tötete (durch Erstickung), spectroskopisch keine Veränderungen. Er erklärt daher Formaldehydgas (inspiriret) nicht für ein Blutgift.

Ich habe auch im Blut meiner beiden Versuche spectroskopisch keine Veränderungen wahrnehmen können. Das Blut zeigte in starker Verdünnung deutlich das Oxyhämoglobin spectrum, zwei Absorptionsstreifen zwischen den Frauenhofer'schen Linien D und E, die sich beim Zusatz von einigen Tropfen Schwefelammonium oder Stocke'scher Lösung durch Reduktion des Oxyhämoglobins zu Hämoglobin in den Hämoglobinstreifen verwandelten. Das Spectrum des Hämatins sah ich weder in saurer noch in alkalischer Lösung.

Auffallend ist dagegen die neutrale Reaktion des Blutes im Versuch IX, seine leichte Gerinnbarkeit, dunkle Farbe und Ausscheidung eines stark rötlichen Blutserums.

Es ist aber das bei Verabreichung selbst toxischer Gaben von Hetralin in den Körper gelangende Formaldehyd nicht als Blutgift aufzufassen: es wird im Blut zum grössten Teil an Eiweiss gebunden, ein kleiner Teil ist frei, ein anderer wird zu Ameisensäure und Kohlensäure oxydiert.

8. Verhalten des Formaldehyds in Ascites-Flüssigkeit.

Die Untersuchungen hierüber dienen teilweise als Ergänzung der Versuche über das Verhalten des Hetralins im Blut in chemischer Hinsicht, teilweise habe ich sie noch ausgeführt, um zu sehen, ob der im Blut resp. Ascites-Flüssigkeit vorhandene Formaldehydgehalt hinreichend ist, um eine baktericide Wirkung auszuüben.

Versuch XI. 13. XI. 05.

Nr. 7, Schnauzer, ♂, $1^1/_2$ Jahr, 16 kg, mit Hydrops ascites, Hydropericardium, Hydrops anasarka, Struma hyperplastica, erhielt 12 h M. Hetralin 0,02 pro kg = 0,32 in toto per os.

13. XI. 5 h, wurden mit sterilem Troikar durch Punktion etwa drei Liter Ascitesflüssigkeit entnommen. Das Bauchwasser zeigte stark rötlichen Farbenton, sodass auch das Filtrat noch rosa gefärbt war. Die Prüfung auf den Gehalt an Formaldehyd führte ich in foldender Weise aus:

Die eine Probe untersuchte ich direkt im Filtrat; eine andere — 50 ccm — versetzte ich mit 2 ccm Schwefelsäure und stellte sie zwei Stunden lang in den Brutschrank bei 37° C; 50 ccm, mit H_2SO_4 angesäuert, wurden auf dem Wasserbad 5 Minuten lang in kochendem Wasser belassen; endlich wurden 50 ccm, mit 4 ccm H_2SO_4 angesäuert, in strömenden Wasserdampfe destilliert.

Die angewandten Reaktionen und ihre Ergebnisse sind auf Tabelle 16 verzeichnet.

TABELLE 16. Versuch XI. 13. XI. 05.

Formaldehyd-Reaktion in Ascites-Flüssigkeit	Filtrat	50 ccm + 2 ccm H_2SO_4 2 St. lang im Brutschrank	50 ccm + 2 ccm H_2SO_4 5 Min. lang i. kochend. Wasser	50 ccm + 4 ccm H_2SO_4 destilliert
Jorissen	negativ	3 Zinnober 3//t	3 Zinnober 3//s	2 Zinnober 2//s
Judd	negativ	3 Zinnober 3//v	3 Zinnober 3//u	2 Zinnober 2//t
Saure Phenylhydrazinprobe	negativ	negativ	27 Purpur 27//h	
Ferricyankaliumprobe	negativ	sofort 1 Zinnober 1//m	30 Carmin 30//k	1 Zinnober 1//l
Nitroprussidprobe	negativ	Legal. Reakt.	Legal. Reakt.	Legal. Reakt.

10 ccm Ascitesflüssigkeit, mit 3 Tropfen verdünnter H_2SO_4 angesäuert und erwärmt, gab mit Jorissen auch 3 Zinnober 3 // t.

Die Tabelle Nr. 16 lehrt uns, dass wie im Blut, so auch in seinen Transsudat nach einer Hetralingabe von 0,02 pro kg Körpergewicht Formaldehyd nach fünf Stunden in geringer Menge und an Eiweiss gebunden nachzuweisen ist; denn erst wenn ich durch den Einfluss von Säure und von höheren Wärmegraden den Formaldehyd frei machte, war er nachweisbar.

Daher war auch eine antibakterielle Wirkung des Formaldehyds in steril entnommenen Proben, geimpft mit Bacterium pyocyaneum, nicht zu erkennen.

Ascitesflüssigkeit geimpft mit Pyocyaneus am 13. XI. 5. h:

Probe	Wachstum am		
	14. X. morg.	15. XI. Vorm.	16. XI.
a.	zartes irisierendes Häutchen an der Oberfläche	+	+!
b.		+	+
c.		+	+!
d.		+	+!

Vom zweiten Tage ab zeigte sich deutliches Wachstum durch Bildung einer Kahmhaut (+); am dritten Tage wurden die Kulturm trüb, von oben her grün fluorescierend (+!).

In dem von dem Tiere gewonnenen alkalischen Harn zeigten sich die Formaldehydreaktionen deutlicher; doch bestand in den geimpften Harnproben nur verzögertes Wachstum des Pyocyaneus (Siehe Tabelle 38 S. 86).

Versuch XII. 29. XI. 05. Nr. 7. Derselbe Schnauzer. 13,5 kg, erhielt 10 h 45 Hetralin 0,1 pro kg, 1,35 in toto mit der Schlundsonde. 4 Stunden darauf erhielt er nochmals die gleiche Dosis.

29. XI. 6 h N. M. wurden dem Tier steril $1^1/_2$ Liter Ascitesflüssigkeit entnommen.

Die Untersuchung auf ihren Formaldehydgehalt führte ich wieder in ähnlicher Weise aus. Zuerst versuchte ich, im Filtrat Formaldehyd nachzuweisen. Eine zweite Probe wurde 12 Stunden lang in dem Brutschrank bei 37° C gestellt; eine dritte Probe — 50 ccm — ebenfalls, nachdem sie zuvor mit 2 ccm H_2SO_4 angesäuert war; viertens wurden 50 ccm, mit 2 ccm H_2SO_4 versetzt, 5 Minuten lang auf dem Wasserbade im kochenden Wasser belassen.

Die Ergebnisse des Formaldehydnachweises sind auf Tabelle Nr. 17 verzeichnet.

TABELLE 17. Versuch XII. 29. XI. 05.

Formaldehyd-Reaktion in Ascites-Flüssigkeit	Filtrat	12 Stunden lang im Brutschrank	50 ccm + 2 ccm H_2SO_4 12 St. lang im Brutschrank	50 ccm + 2 ccm H_2SO_4 5 Min. lang i. kochend. Wasser
Jorissen	negativ	negativ	3 Zinnober 3//o	2 Zinnober 2//o
Judd	negativ	negativ	2 Zinnober 2//u	2 Zinnober 2//m
Saure Phenylhydrazinprobe	negativ	negativ	28 Carmin 28 /k	27 Purpur 27 f
Ferricyankaliumprobe	negativ	negativ	29 Carmin 29 /k	28 Carmin 28 i
Nitroprussidprobe	negativ	negativ	21 Blau 21//c	21 Blau 21//a

10 ccm + 4 gtt. H_2SO_4 und erwärmt gaben nach dem Erkalten mit Jorissen 3 Zinnober 3 // t.

Es war somit auch bei Hetralin 0,2 pro kg, in fraktionierter Dosis gegeben, freier Formaldehyd in der Ascitesflüssigkeit nicht nachzuweisen; auch bei 12 Stunden langem Stehen derselben in dem Brutschranke trat keine Formaldehydabspaltung ein; erst wenn nach Zusatz von Schwefelsäure die Bindung des Formaldehyds an Eiweiss gelöst wurde, war Formaldehyd deutlich nachweisbar. Entsprechend der grösseren Hetralingaben im Versuch XII. waren auch die Reaktionen schärfer, und auch die Nitroprussidprobe zeigte dementsprechend positives Ergebnis.

Um die Stärke der Formaldehydreaktion auch bakteriologisch zu prüfen, infizierte ich steril entnommene Proben von Ascitesflüssigkeit mit Bact. pyocyaneum, am 29. XI. 05.

Proben	Wachstum am	
	30. XI.	1. XII.
a.	+	+!
b.	+!	+!
c.	+	+
d.	+!	+!
e.	+	+!

Die geimpften Proben zeigten schon nach 24 Stunden deutliches Wachstum des Pyocyaneus; es bildete sich eine zarte Haut an der Oberfläche (+) und darunter in manchen Fällen bereits ein etwa 1 ccm breiter grüner Ring (+!). Am nächsten Tage waren diese Verhältnisse noch deutlicher.

Es gelang demnach auch bei einer Dosis von 0,2 pro kg nicht, in Ascitesflüssigkeit eine antiseptische Wirkung zu erreichen,

da der Formaldehyd bei seiner ausserordentlichen Affinität für Eiweisskörper sich an diese bindet und nicht abgespalten wird.

Dagegen wurde in dem zu gleicher Zeit gelassenen Harn des Tieres (S. Tabelle 38, S. 88) weil hier der Formaldehyd teilweise in freier Form, teilweise in loser Bindung auftritt, Bacterium pyocyaneum abgetötet. Es ist also im Harn stets eine grössere desinfizierende Wirkung zu erreichen als im Blut.

Das Allgemeinbefinden des Tieres war bei dieser Dosis nicht besonders gestört. Es trat nur nach $^3/_4$ Stunden eine geringe Temparaturerhöhung von 38.8 auf 39,1 °, die in einer Stunde darauf zu 38,6 ° zurückgekehrt war, ein. Der Harn zeigte keine abnorme Beschaffenheit.

9. Nachweis von Formaldehyd in den Organen.

Um den Nachweis von Formaldehyd in den Organen nach interner Anwendung des Hetralins zu erbringen, bediente ich mich der Destillation im strömendem Wasserdampfe nach vorherigem Ansäuern. Aus dem toxikologischen Versuch XIX. (S. 94) untersuchte ich Blut, Herz, Muskel, Lungen, Leber, Milz, Magen, Dünndarm, Dickdarm, Niere, Blase, Submaxillaris, Gehirn; ich wog von jedem Organ genau 5 g ab, zerhackte es fein, setzte 50 ccm Aqua destill. und 3 ccm verdünnte $H_2 SO_4$ hinzu und destillierte darauf in strömendem Wasserdampfe. Es wurden jeweils 30 ccm überdestilliert und auf Formaldehyd untersucht. Die Tabelle 18 beweist den positiven Ausfall der Formaldehydreaktionen in den Organen.

Aus den sehr intensiven Reaktionen auf Formaldehyd geht hervor, dass Formaldehyd in erheblicher Menge in allen Organen vorhanden war, wohin er vom Darm aus auf dem Wege der Blut- und Lymphbahnen gelangte. Bei den äussert intensiven Farbenreaktionen war es schwer, über den grösseren oder geringeren Formaldehydgehalt in den einzelnen Organen auf diese Weise Aufschluss zu bekommen. Soviel geht aber aus der Tabelle 18 hervor, dass den reichlichsten Formaldehydgehalt Leber, Milz, Magen, Dünndarm und Dickdarm aufwiesen; darauf folgte Lunge, Blut, Herz, Muskel und Nieren; den geringsten Formaldehydgehalt zeigten Blase, Submaxillaris und Gehirn, erstere weil infolge der eingetretenen Anurie nur wenig formaldehydhaltiger Harn in die Blase gelangte, letztere, weil sie blutärmere Organe sind.

TABELLE 1

Formaldehyd-reaktionen im Destillat von Organen	Blut	Herz	Muskel	Lungen	Leber	Mil
Jorissen	1 Zinn. i//l + + +*	1 Zinn. i//l + + +	1 Zinn. i//l + + +	1 Zinn. i//l + + +	1 Zinn. i//l + + +	1 Zinn. — +
Judd	2 Zinn. 2//r + + +	1 Zinn. i//s — + +	1 Zinn. i//s — + +	2 Zinn. 2//p + + +	2 Zinn. 2//q + + +	2 Zinn. + +
Riegler	1 Zinn. 1//s — + +	1 Zinn. i//s — + +	1 Zinn. o//t — + +	1 Zinn. o//r — + +	1 Zinn. o//q + + +	1 Zinn. + +
Ferricyan-kalium	28 Carm. 28//i + + +	28 Carm. 28//i + + +	28 Carm. 28//k + + +	29 Carm. 29//k + + +	28 Carm. 28 k 29 Carm + + +	+ +
Nitroprussid	21 Blau 21//a + + +	Blaugrün — + +	Blaugrün — + +	Blau + + +	Dunkelblau + + +	Dunkel + +

*) Die Zeichen bedeuten: — — ? fragliche
— + + deutliche
+ + + sehr deutliche Reaktion.

Bezüglich der angewandten Formaldehydreaktionen möchte ich noch anfügen, dass sie so intensiv waren, dass die Reaktionen nach Jorissen und Judd nach 12 Stunden noch Rosaschimmer zeigten; die Farbentöne bei der Methode von Riegler, wie sie in der Tabelle 18 eingetragen sind, bezeichnen die sofort eintretende Rosafärbung, welche jedoch nach $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunden in carmin (30//n) übergegangen war; nach 12 Stunden war die carminrote Färbung eine noch intensivere (28 // k und h). Das Carmin der Ferricyankaliumprobe war nach 12 Stunden etwas abgeblasst.

Zur Kontrolle dieser Untersuchungen destillierte ich auf die gleiche Weise Leber, Muskel und Niere eines gesunden erschossenen Hundes.

Die Reaktion nach Jorissen zeigte in allen drei Destillaten durchaus negatives Resultat; sie erwies sich also auch hier als zuverlässig.

Nach Judd dagegen erhielt ich bei Leber und Muskel leichten Rosaschimmer (2 // u). Die Methode nach Riegler ergab in allen drei Destillaten nach 2—5 Minuten schwachen rosaroten Farbenton (3//u und t), der nach einer halben Stunde in 2 Zinnober 2 // o und nach 12 Stunden in 1 Zinnober i // k übergegangen war.

Bei der Ferricyankaliumprobe trat zuerst ein leicht Orange- oder Zinnober-Farbenton ein, der in der nächsten halben Stunde auch intensiver wurde (3 // p oder 2 // q).

ersuch XIX. 21. X. 05.

Magen	Dickdarm	Dünndarm	Niere	Blase	Submaxillaris	Gehirn
Zinn. i//l + +	1 Zinn. i//l + + +	1 Zinn. i//l + + +	1 Zinn. i//m − + +	1 Zinn. i//n − + +	1 Zinn. i//n − + +	1 Zinn. i//o − + +
Zinn. 2//p + +	2 Zinn. 2//q + + +	2 Zinn. 2//p + + +	2 Zinn. 2//r + + +	2 Zinn. 2//s − + +	2 Zinn. 2//s − + +	1 Zinn. i//s − + +
Zinn. o//q + +	1 Zinn. i//p + + +	1 Zinn. i//s − + +	1 Zinn. i//q + + +	1 Zinn. i//s − + +	1 Zinn. i//s − + +	1 Zinn. i//s − + +
Carm. 28 k + +	29 Carm. 29 i + + +	29 Carm. 29//i + + +	29Carm.29//m − + +	29Carm.29//m − + +	29Carm.29//m − + +	29 Carm. 29//n − + +
nkelblau + +	Blau + + +	Blau + + +	Blaugrün − + +	Leg. Reakt. − − ?	Leg. Reakt. − − ?	Leg. Reakt. − − ?

Die Farbentöne der drei letzten Reaktionen erreichten somit in keiner Weise die Intensität, wie in den untersuchten formaldehydhaltigen Organen.

Diese Tatsache, sowie der negative Ausfall der Jorissen'schen Reaktionen in den formaldehydfreien Organen bestätigen den einwandsfreien Nachweis des Formaldehyds in den Organen des mit Hetralin vergifteten Tieres.

An der Hand der mitgeteilten Versuche kann ich die Bedingungen über die Abspaltung und Ausscheidung des Formaldehyds im Tierkörper nach interner Anwendung von Hetralin in folgender Weise kurz zusammenfassen:

Formaldehyd spaltet sich stärker ab in sauren als in alkalischen Flüssigkeiten und besser bei höherer Temparatur als bei niederer.

Nach Aufnahme des Hetralins per os wird daher vorzüglich im Magen durch die stark saure Reaktion des Magensaftes aus dem Hetralin Formaldehyd abgespalten. Von Darm aus resorbiert teilt der Formaldehyd mit dem Blut sich dem ganzen Körper mit.

Ein grosser Teil des Formaldehyds wird dabei zu Ameisensäure und Kohlensäure oxydiert, ein anderer an Eiweiss gebunden.

Mit den Sekreten, bei grosser Dosis zum Teil auch mit den Excreten wird der nicht oxydierte Formaldehyd wieder

ausgeschieden. Sobald der Formaldehyd in der Niere aus den Glomerulis mit dem Blutserum in die Harnkanälchen gelangt, wird im Harn unter dem Einfluss der Harnsäure und der harnsauren Salze Formaldehyd frei gemacht, ein grösserer Teil bleibt an Harnstoff und Harnsäure locker gebunden und kann aus diesen Bindungen leicht wieder als freier Formaldehyd abgespalten werden.

IV. Feststellung des kolyseptischen und antiseptischen Wertes von Hetralin und seinen Componenten Resorcin und Hexamethylentetramin in alkalischen, neutralen und sauren Nährmedien.

Die in diesem Kapitel niedergelegten Versuche sollen ein Urteil ermöglichen über den relativen desinfektorischen Wert von Hetralin, Resorcin und Urotropin; sie sollen zeigen, ob Hetralin gegenüber dem Urotropin in verschiedenen Substraten energischer Formaldehyd abspaltet und so eine stärkere bakterizide Wirkung entfaltet und ob das Resorcin die Wirkung des Hetralins unterstützt.

I. Hetralin, Resorcin und Urotropin in alkalischer Bouillon.

a) Verhalten des Hetralins in steriler alkalischer und mit Bacterium pyocyaneum geimpfter Bouillon.

Ich füllte aus dem Treskow'schen Abfülltrichter je 10 ccm alkalische Bouillon in sterile Reagensgläschen ab, sterilisierte die Kulturen nochmals und stellte in ihnen in folgender Weise die verschiedenen Konzentrationsgrade mit Hetralin her.

Bei den Konzentrationen 1 : 20 bis 1 : 100 wog ich die betreffende Menge Hetralin einzeln ab und löste sie in den 10 ccm Bouillon auf. Bei den Konzentrationen 1 : 200 bis 1 : 900 fügte ich aus einer sterilen Lösung 1 Hetralin : 20 Aqua destillata mit sterilen Pipetten 1,0 0,66 0,5 0,33 und s. f. ccm zu den je 10 ccm Bouillon enthaltenden Proben hinzu und schüttelte die Lösung vorsichtig durcheinander. Bei den Konzentrationen 1 : 1000 bis 1 : 8000 setzte ich in der gleichen Weise mit sterilen Pipetten aus einer Stammlösung 0,1 : 10 Aqua destill. 1,0, 0,5, 0,25 und 0,165 ccm zu je 10 ccm Bouillon. So erhielt ich unter Beobachtung steriler Kautelen die auf der Tabelle 19 verzeichneten Konzentrationen. Diese wurden mit je einer Oese Reinkultur

von Bact. pyocyaneum in alkalischer Bouillon geimpft und in den Brutschrank bei 37 ° C gestellt. Ich beobachtete in bestimmten Zeitabschnitten die mit Hetralin versetzten und mit Pyocyaneus infizierten Kulturen im Vergleich mit solchen ohne Hetralinzusatz, um zu sehen, bei welchen Konzentrationen der Hetralin-Bouillon kein Bakterienwachstum erfolgte (—*), bei welchen das Wachstum des Pyocyaneus verzögert war (+*) und bei welchen nach 12 bis 14 Stunden schon deutliches Bakterienwachstum erfolgte (+!*).

Die nach zweimal 24 Stunden noch klaren oder undeutliches Wachstum verratenden Konzentrationen wurden jeweils auf alkalische Bouillon abgeimpft, um festzustellen, ob in den Konzentrationen die Mikroorganismen wirklich abgetötet waren (Antiseptis) oder ob sie nur in ihrer Entwickelung gehemmt und fähig waren, auf günstigeren Nährböden sich weiter fortzupflanzen (Kolysepsis).

*) In den nachfolgenden Tabellen bezeichnet:
— kein Wachstum, + verzögertes Wachstum, +! deutliches Wachstum.

TABELLE 19. Hetralin in alkalischer Bouillion geimpft mit Pyocyaneus. Ausgeführt am 26. X. 6 h. N. M.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind gr. Hetralin	Wachstum des Pyocyaneus am 27. 9 h V. M.	28. 8 h V. M.	29. 9 h V. M.	Wachstum nach Ueberimpfung am 28. X. 29.	30.
1 : 20	0,5	—	—	—		
1 : 40	0,25	—	—	—		
1 : 60	0,165	—	—	—		
1 : 80	0,125	—	—	—		
1 : 100	0,1	—	—	—	—	—
1 : 200	0,05	—	—	—	—	
1 : 300	0,033	—	—	—	—	
1 : 400	0,025	—	—	—	—	—
1 : 500	0,02	—	+	+!	+!	+!
1 : 600	0,0165	—	+	+!	+!	+!
1 : 700	0,0143	—	+	+!		
1 : 800	0,0125	—	+	+!		
1 : 900	0,0111	+!	+!	+!		
1 : 1000	0,01	+!	+!	+!		
1 : 2000	0,005	+!	+!	+!		
1 : 4000	0,0025	+!	+!	+!		
1 : 6000	0,00165	+!	+!	+!		
1 : 8000	0,00125	+!	+!	+!		

Auf der Tabelle 19 sind die Ergebnisse der Impfung und der nachherigen Ueberimpfung von den verschiedenen Hetralin-Konzentrationen registriert. Es zeigte sich, dass Hetralin in alkalischer Bouillon noch bei einer Konzentration 1 : 400, mit einem Hetralingehalt von 0,025 g, auf Bacterium pyocyaneum eine antiseptische Wirkung ausübt. Zwischen den Konzentrationen

1 : 500 bis 1 : 800 bestand verzögertes Wachstum des Pyocyaneus und von 1 : 900 an aufwärts ungestörtes Wachstum desselben. Die Hetralinkonzentrationen hatten vermöge ihres Gehaltes an Resorcin mehr oder weniger stark nachgedunkelt — die Farbe der Proben war nach zwei Tagen je nach der Konzentration orange bis braunrot — und das Hetralin hatte sich infolge seiner schlechten Löslichkeit teilweise in Form von Flocken ausgeschieden und am Boden angesetzt.

b. Verhalten des Resorcins in steriler alkalischer und mit Bacterium pyocyaneum geimpfter Bouillon.

Die Konzentrationen 1 : 10 bis 1 : 100 stellte ich wieder in der Weise her, dass ich die jeweils abgewogenen Gramm Resorcin den 10 ccm Proben zusetzte. Die übrigen Konzentrationen wurden aus sterilen Stammlösungen 1 : 10 und 0,1 : 10 Aqua destill. hergestellt, indem mit sterilen Pipetten für Konzentrationen zwischen 200 und 1000 aus der ersten Stammlösung (10 %) für die höheren Konzentrationen aus der 1 % Stammlösung 0,5 0,25, 0,2 0,165 u. s. f. ccm abgemessen und den 10 ccm enthaltenden Bouillonkulturen zugesetzt wurden. Diese wurden mit je einer Oese Reinkultur von Bacterium pyocyaneum geimpft und in den Brutschrank gestellt. Die dabei gemachten Beobachtungen über den antiseptischen und kolyseptischen Effekt des Resorcins in alkalischer Bouillon sind auf Tabelle 20 verzeichnet.

TABELLE 20. Resorcin in alkalischer Bouillon mit Pyocyaneus geimpft. Ausgeführt am 10. XI. 05. Abends 8 h.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind gr. Resorcin	Wachstum des Pyocyaneus am 11. XI. 8 h. V. M.	12. XI. 9 h.	13. XI. 12 h.	Wachstum nach Ueberimpfung am 12. XI. 13. XI.	14. XI.
1 : 10	1,0	—	—	—		
1 : 20	0,5	—	—	—		
1 : 40	0,25	—	—	—		
1 : 60	0,165	—	—	—		
1 : 100	0,1	—	—	—		
1 : 200	0,05	—	—	—	—	—
1 : 400	0,025	—	—	—	—	—
1 : 500	0,02	—	—	—	—	—
1 : 600	0,0165	—	—	+ !	+ !	+ !
1 : 800	0,0125	+	+ !	+ !	+ !	+ !
1 : 1000	0,01	+	+ !	+ !		
1 : 2000	0,005	+ !	+ !	+ !		
1 : 4000	0,0025	+ !	+ !	+ !		
1 : 6000	0,00165	+ !	+ !	+ !		
1 : 8000	0,00125	+ !	+ !	+ !		

Das Resorcin übte hier beinahe dieselbe Wirkung aus wie das Hetralin. Es trat ebenfalls bei 1 : 400 eine Abtötung des Bacterium pyocyaneum ein, während die Konzentration 1 : 500 dasselbe nur in seiner Entwickelung hemmte. Wurde aus der mit Pyocyaneus infizierten und nach zwei Tagen noch klar gebliebenen Konzentration 1 : 500 auf sterile alkalische Bouillon abgeimpft, so trat in dieser am nächsten Tage typisches Wachstum des Pyocyaneus ein. In den Konzentrationen 1 : 600 bis 1 : 1000 zeigte sich ein verzögertes Wachstum des geimpften Bazillus und bei einer Verdünnung von 1:2000 an aufwärts trat uneingeschränktes Bakterienwachstum auf. Die Proben waren schon nach 12 Stunden grün fluorescierend und mit einer Haut an der Oberfläche versehen.

c. Verhalten des Urotropins in steriler alkalischer und mit Bacterium pyocyaneum geimpfter Bouillon.

Mit derselben Bouillon, wie sie schon bei Hetralin und Resorcin verwendet wurde, stellte ich wieder verschiedene Konzentrationen mit Urotropin her und infizierte sie mit einer Oese Bacterium pyocyaneum in Reinkultur. Bei Herstellung der Urotropinkonzentrationen verfuhr ich in der gleichen Weise, wie ich es beim Resorcin angegeben habe.

Die Ergebnisse habe ich auf Tabelle 21 zusammengestellt.

TABELLE 21. Urotropin in alkalischer Bouillon mit Pyocyaneus geimpft. Ausgeführt am 6. XI. 05. 6 h. abends.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind gr. Urotropin	Wachstum des Pyocyaneus am 7. XI. 8 h V. M.	8. XI. 9 h.	Wachstum nach Ueberimpfung am 7. XI. 8. XI.	9. XI.
1 : 10	1,0	—	—	+ !	+ !
1 : 20	0,5	—	+ !	+ !	+ !
1 : 30	0,33	+ !	+ !		
1 : 40	0,25	+ !	+ !		
1 : 50	0,2	+ !	+ !		
1 : 60	0,165	+ !	+ !		
1 : 70	0,143	+ !	+ !		
1 : 80	0,125	+ !	+ !		
1 : 90	0,111	+ !	+ !		
1 : 100	0,1	+ !	+ !		
1 : 200	0,05	+ !	+ !		
1 : 400	0,025	+ !	+ !		
1 : 600	0,0165	+ !	+ !		
1 : 800	0,0125	+ !	+ !		
1 : 1000	0,01	+ !	+ !		

Wie vorstehende Tabelle 21 zeigt, hat das Urotropin gegenüber dem Hetralin in alkalischer Bouillon eine ganz geringe bakterizide Wirkung entfaltet. Selbst bei einer Konzentration 1 : 10 wurde Bacterium pyocyaneum nicht einmal abgetötet,

sondern nur in seiner Entwicklung gehemmt; bei 1 : 20 wurde Pyocyaneus in seiner Entwicklung etwas beeinträchtigt, und schon von 1 : 30 ab konnte er sich ungestört entwickeln.

Diese geringe desinfektorische Wirkung des Urotropins gegenüber dem Hetralin in alkalischer Bouillon ist ein Beweis für die auch von Impens (55) hervorgehobene träge vor sich gehende Zersetzung des Urotropins in alkalischen Flüssigkeiten. Ich konnte daher auch in den Urotropinkonzentrationen 1 : 10 und 1 : 20 nach 2 Tage langem Stehen im Brutschrank mit der Jorissen'schen Reaktion nur mit einiger Deutlichkeit (3 // q) Formaldehyd nachweisen, während die Konzentration 1 : 40 und 1 : 60 schon ganz schwache Reaktionen zeigten. Viel deutlicher fielen dagegen bei den gleichen Konzentrationen unter den gleichen Bedingungen die Reaktionen in neutraler und saurer Bouillon aus.

2. Hetralin, Resorcin und Urotropin in neutraler Bouillon.

a. Verhalten des Hetralins in steriler neutraler und mit Bacterium pyocyaneum geimpfter Bouillon.

Ich stellte mir wieder Stammlösungen von 1 : 20 und 0,1 : 10 her und mass mit sterilen Pipetten die betreffenden Konzentrationen ab. Bei den Verdünnungen unter 1 : 100 wurde die jeweils abgewogene Hetralinmenge zugesetzt. Die Resultate der geimpften und der klar gebliebenen übergeimpften Proben sind auf Tabelle 22 verzeichnet.

TABELLE 22. Hetralin in neutraler Bouillon geimpft mit Pyocyaneus
Ausgeführt am 4. XI. 9 h. V. M.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind g Hetralin	Wachstum des Pyocyaneus am 5. XI. 9 h.	6. XI. 8 h.	7. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 6. XI. 7. XI.	8. XI.
1 : 40	0,25	—	—	—		
1 : 60	0,165	—	—	—		
1 : 80	0,125	—	—	—		
1 : 100	0,1	—	—	—		
1 : 200	0,05	—	—	—	—	—
1 : 300	0,033	—	—	—	—	—
1 : 400	0,025	—	+	+!	—	—
1 : 500	0,02	—	+!	+!	+	+!
1 : 600	0,0165	+!	+!	+!	+!	+!
1 : 700	0,0143	+!	+!	+!		
1 : 800	0,0125	+!	+!	+!		
1 : 900	0,0111	+!	+!	+!		
1 : 1000	0,01	+!	+!	+!		
1 : 2000	0,005	+!	+!	+!		
1 : 4000	0,0025	+!	+!	+!		
1 : 6000	0,00165	+!	+!	+!		

Bacterium pyocyaneum wuchs in der neutralen Bouillon nicht mit so intensiver Farbstoffbildung wie in alkalischer Bouillon; der Farbstoff war nicht so schön grasgrün wie in letzterer, sondern mehr gelblichgrün. Nach ein und zwei Tagen waren die mit Pyocyaneus geimpften Kulturen stark getrübt, graugrün, mit zartem Häutchen und 1—2 cm breitem gelbgrünen Ring an der Oberfläche und mittelmässigem Bodensatz; nach 4—5 Tagen erst waren die Kulturen gänzlich gelbgrün fluorescierend. Dieses in neutraler Bouillon typische Wachstum zeigten die Hetralinkonzentrationen 1 : 600 und schwächer; bei 1 : 400 und 1 : 500 war das Wachstum verzögert; bei 1 : 300 mit einem Hetralingehalt von 0,033 g erhielt die neutrale Bouillon antiseptische Eigenschaften, denn von hier ab wiesen die übergeimpften Bouillonkulturen kein Bakterienwachstum mehr auf.

Das Hetralin löste sich auch hier nicht klar in den stärkeren Konzentrationen; sie zeigten nach einiger Zeit mehr oder weniger reichlich Flocken und Bodensatz und dunkelten nach. Bis zur Konzentration 1 : 300 waren die Proben nach einem Tage trüb, durchscheinend, mit reichlichem Bodensatz, nach zwei Tagen rötlichbraun mit hellbraunem Bodensatz und nach drei Tagen waren die Konzentrationen von 1 : 100 an abwärts schmutzig kaffeebraun. Einen leichten Stich ins Braune zeigten noch die Konzentrationen 1 : 700 und einen Bodensatz bis 1 : 1000.

b. Verhalten des Resorcins in steriler neutraler und mit Bacterium pyocyaneum geimpfter Bouillon.

Nachfolgende Konzentrationen wurden in der angegebenen Weise hergestellt und mit Bacterium pyocyaneum geimpft. Die Ergebnisse der Untersuchungen über den bakterientötenden Einfluss des Resorcins auf Bacterium pyocaneum in neutraler Bouillon sind auf der Tabelle Nr. 23 verzeichnet.

TABELLE 23.

Resorcin in neutraler Bouillon geimpft mit Pyocyaneus.
Ausgeführt am 13. XI. 7 h. N. M.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind gr. Resorcin	Wachstum des Pyocyaneus am 14. XI. 8 h. V. M.	15. XI. 8 h V. M.	16. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 15. XI. 16.	17.
1 : 60	0,165	—	—	—	—	—
1 : 80	0,125	—	—	—	—	—
1 : 100	0,1	—	—	—	—	—
1 : 200	0,05	—	—	—	—	—
1 : 300	0,033	—	—	—	+!	+!
1 : 400	0,025	—	—	—	+!	+!
1 : 500	0,02	+	+!	+!		
1 : 600	0,0165	+	+!	+!		
1 : 700	0,0143	+	+!	+!		
1 : 800	0,0125	+	+!	+!		
1 : 1000	0,01	+	+!	+!		
1 : 2000	0,005	+	+!	+!		
1 : 4000	0,0025	+	+!	+!		
1 : 5000	0,002	+!	+!	+!		
1 : 6000	0,00165	+!	+!	+!		
1 : 8000	0,00125	+!	+!	+!		

Darnach zeigte Pyocyaneus erst bei 1 : 5000 typisches Wachstum; bei den Verdünnungen von 1 : 4000 bis 1 : 5000 trat ein verzögertes Wachstum ein. Die Konzentrationen 1 : 300 und 1 : 400 blieben klar, doch zeigten die aus ihnen abgeimpften Kulturen deutliches Wachstum; es wirkte also bei dieser Verdünnung das Resorcin kolyseptisch. Erst bei 1 : 200 trat eine antiseptische Wirkung ein.

c. Verhalten des Urotropins in steriler neutraler und mit Bacterium pyocyaneum geimpfter Bouillon.

Das Urotropin zeigte in der neutralen Bouillon eine viel grössere desinfektorische Wirkung als in der alkalischen, wie Tabelle 24 im Vergleich mit Tabelle 21 zeigt.

TABELLE 24.

Urotropin in neutraler Bouillon geimpft mit Pyocyaneus.
Ausgeführt am 7. XI. 05. 7 h. N. M.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind gr. Urotropin	Wachstum des Pyocyaneus am 8. XI. 9 h. V. M.	9. XI. 9 h.	10. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 9. XI. 10.	11.
1 : 20	0,5	—	—	—		
1 : 30	0,33	—	—	—		
1 : 40	0,25	—	—	—		
1 : 50	0,2	—	—	—		
1 : 60	0,165	—	—	—		
1 : 80	0,125	—	—	—		
1 : 100	0,1	—	—	—		
1 : 200	0,05	—	—	—		
1 : 300	0,033	—	—	—	—	—
1 : 400	0,025	—	—	—	—	—
1 : 500	0,02	—	—	—	—	—
1 : 600	0,0165	—	—	—	—	+!
1 : 800	0,0125	—	—	+	—	+!
1 : 1000	0,01	—	+!	+!	+!	+!
1 : 2000	0,005	+!	+!	+!		
1 : 4000	0,0025	+!	+!	+!		
1 : 8000	0,00125	+!	+!	+!		

In der neutralen Urotropin-Bouillon begann demnach das ungestörte Wachstum des Pyocyaneus erst bei einer Konzentration 1 : 2000. Von 1 : 800 bis 1 : 1000 bestand verzögertes Wachstum. Bei den Konzentrationen 1 : 600 trat eine kolyseptische und bei 1 : 500 eine antiseptische Wirkung ein. Wie ich mich auch mit der Jorissen'schen Reaktion überzeugen konnte, wurde bei Urotropin im neutralen Substrat viel besser Formaldehyd abgespalten als in dem alkalischen; daraus erklärt sich auch seine stärkere antiseptische Wirkung. Hetralin hat im gleichen Substrat eine geringere Desinfektionskraft; es dürfte daher kein Grund vorhanden sein, anzunehmen, dass dieselbe auf das im Hetralin enthaltene Resorcin zurückzuführen, sonach in dem Resorcinzusatz eine wesentliche Verstärkung der Urotropinwirkung zu erblicken ist.

3. Hetralin, Resorcin und Urotropin in angesäuerter Bouillon.

a. Verhalten des Hetralins in angesäuerter und mit Bacterium pyocyaneum geimpfter Bouillon.

Um das Wachstum des Pyocyaneus nicht zu verhindern, darf man zu der Bouillon nicht zu viel Säure hinzusetzen. In den folgenden Versuchen habe ich, um Bouillon anzusäuren, von

einer Essigsäurelösung 1 : 10 je einen Tropfen zu 30 ccm Bouillon zugesetzt, so dass die Bouillon danach blaues Lakmuspapier ganz schwach rot färbte.

Zu je 10 ccm der sterilen angesäuerten Bouillon wurden wieder aus Stammlösungen 1 : 20 und 0,1 : 10 Aqua destill. die betreffenden ccm steril abgemessen oder es wurden bei den Konzentrationen 1 : 40 bis 1 : 90 die betreffenden Gramm Hetralin abgewogen und zugesetzt. Darauf wurden die Proben wieder mit je einer Oese Reinkultur von Bacterium pyocyaneum in alkalischer Bouillon geimpft und die klar gebliebenen Kulturen nach zwei Tagen abgeimpft. Das Resultat dieser Versuche ist auf Tabelle 25 verzeichnet.

TABELLE 25.

Hetralin in angesäuerter Bouillon geimpft mit Pyocyaneus.
Ausgeführt am 10. XI. 05. 7 h. N. M.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind gr. Hetralin	Wachstum des Pyocyaneus am 11. XI. 9 h V. M.	12. XI. 9 h.	13. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 12. XI. 13. XI.	14. XI.
1 : 40	0,25	—	—	—		
1 : 50	0,2	—	—	—		
1 : 60	0,165	—	—	—		
1 : 80	0,125	—	—	—	—	—
1 : 90	0,111	—	—	—	—	—
1 : 100	0,1	—	—	—	—	—
1 : 200	0,05	—	+	+	+!	+!
1 : 300	0,033	+	+!	+!		
1 : 400	0,025	+	+!	+!		
1 : 500	0,02	+	+!	+!		
1 : 600	0,0165	+!	+!	+!		
1 : 800	0,0125	+!	+!	+!		
1 : 1000	0,01	+!	+!	+!		
1 : 1500	0,006	+!	+!	+!		
1 : 2000	0,005	+!	+!	+!		
1 : 3000	0,0033	+!	+!	+!		
1 : 4000	0,0025	+!	+!	+!		
1 : 5000	0,002	+!	+!	+!		

Das Wachstum des Pyocyaneus wurde in Vergleich gezogen mit angesäuerten Bouillonkulturen ohne Hetralinzusatz. Auch in der angesäuerten Bouillon zeigte Bacterium pyocyaneum schlechteres Wachstum als in der alkalischen; es zeigte sich in ihr nach 12 Stunden an der Oberfläche ein zartes Häutchen; darunter ein etwa $^1/_2$ cm breiter gelbgrüner Ring; die übrige Kultur war getrübt.

In den nächsten Tagen verbreitete sich die gelbgrüne Farbe von obenher über die ganze Kultur, sie wurde auch trüber, er-

hielt mässigen Bodensatz und eine zarte Kahmhaut. In dieser Weise trat das Wachstum des Pyocyaneus auch in den Konzentrationen von 1 : 600 an abwärts auf. Von 1 : 200 bis 1 : 500 war das Wachstum etwas verzögert und bei der Konzentration 1 : 100 war das Bacterium pyocyaneum abgetötet.

Die Konzentration 1 : 40 bis 1 : 100 hatten auch hier am zweiten Tage stark nachgedunkelt und wurden durch den Ausfall von Flocken infolge der schweren Löslichkeit des Hetralins mehr oder weniger stark trüb, durchscheinend. Bei den schwächeren Konzentrationen wurde das Nachdunkeln durch die infolge des Bakterienwachstums auftretende Grünfärbung und Trübung der Kultur gedeckt.

b. Verhalten des Resorcins in steriler angesäuerter und mit Bacterium pyocyaneum geimpfter Bouillon.

Die Ausführung der Versuche hierüber geschah in der bereits angedeuteten Weise. Es zeigte sich, dass in den Resorcinkonzentrationen die Reaktion des Substrates keinen nennenswerten Einfluss auf die desinfektorische Wirkung des Resorcins ausübt.

TABELLE 26.

Resorcin in angesäuerter Bouillon geimpft mit Pyocyaneus.
Ausgeführt am 21. XI. 05. 6 h. abends.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind gr. Resorcin	Wachstum des Pyocyaneus am 22. XI. 8 h V. M.	23. XI. 8 h. V. M.	24. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 23. XI. 24. XI.	25. XI.
1 : 60	0,165	—	—	—		
1 : 80	0,125	—	—	—		
1 : 90	0,111	—	—	—		
1 : 100	0,1	—	—	—	—	—
1 : 200	0,05	—	—	—	—	—
1 : 300	0,033	—	—	—	—	—
1 : 400	0,025	—	—	—	+	+!
1 : 500	0,02	—	+	+!	+!	+!
1 : 600	0,0165	—	+!	+!		
1 : 800	0,0125	+	+!	+!		
1 : 1000	0,01	+	+!	+!		
1 : 2000	0,005	+!	+!	+!		
1 : 3000	0,0033	+!	+!	+!		
1 : 4000	0,0025	+!	+!	+!		
1 : 6000	0,00165	+!	+!	+!		

Die antiseptische Wirkung des Resorcins liegt nach diesen Versuchen bei Konzentration 1 : 300 und die kolyseptische Wirkung bei 1 : 400. Zwischen den Konzentrationen 1 : 500 bis 1 : 1000 bestand verzögertes Wachstum, von 1 : 2000 ab entwickelte sich Pyocyaneus in der angesäuerten Resorcinbouillon unbeeinträchtigt.

c. Verhalten des Urotropins in steriler angesäuerter und mit Bacterium pyocyaneum geimpfter Bouillon.

Für die Herstellung der verschiedenen Konzentrationen wurde dieselbe Bouillon verwendet wie in den beiden Versuchen vorher und, wie immer, frisch bereitete Stammlösungen. Die Impfung und Ueberimpfung des Pyocyaneus zeigte das in der Tabelle 27 niedergelegte Resultat.

TABELLE 27.

Urotropin in angesäuerter Bouillon geimpft mit Pyocyaneus. Ausgeführt am 9. XI. 05. 8 h abends.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind gr. Urotropin	Wachstum des Pyocyaneus am 10. XI. 9 h V. M.	11. XI. 9 h	12. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 11. XI. 12.	13.
1 : 20	0,5	—	—	—		
1 : 40	0,25	—	—	—		
1 : 60	0,165	—	—	—		
1 : 70	0,143	—	—	—	—	—
1 : 80	0,125	—	—	—	—	—
1 : 90	0,111	—	—	—	—	—
1 : 100	0,1	—	—	—	—	—
1 : 200	0,05	—	+ !	+ !	+ !	+ !
1 : 300	0,033	—	+ !	+ !	+ !	+ !
1 : 400	0,025	—	+ !	+ !		
1 : 600	0,0165	—	+ !	+ !		
1 : 700	0,0143	+	+ !	+ !		
1 : 800	0,0125	+ !	+ !	+ !		
1 : 900	0,0111	+ !	+ !	+ !		
1 : 1000	0,01	+ !	+ !	+ !		
1 : 2000	0,005	+ !	+ !	+ !		
1 : 4000	0,0025	+ !	+ !	+ !		
1 : 6000	0,00165	+ !	+ !	+ !		

Die Stärke der bactericiden Wirkung wie in der neutralen Bouillon wurde auch durch Urotropin nicht erreicht; es trat mit Urotropin wie beim Hetralin in angesäuerten Bouillon bei 1 : 100, entsprechend einem Urotropingehalt von 0,1 g, ein antiseptischer Effekt ein, Bei den Konzentrationen 1 : 200 bis 1 : 700 war das Wachstum des Pyocyaneus verzögert und von 1 : 800 an ungeschwächt.

4. Hetralin, Resorcin und Urotropin in Ascitesflüssigkeit.

a. Verhalten des Hetralins in steriler und mit Bacterium pyocyaneum geimpfter Ascitesflüssigkeit.

Bekanntlich wird der Formaldehyd im Blut zu Ameisensäure und Kohlensäure oxydiert, teilweise an Eiweiss gebunden. Ueber

das Verhalten der Formaldehyd abspaltenden Präparate im Blut sollen auch die Versuche in vitro mit Ascitesflüssigkeit einigen Aufschluss geben, Die Ascitesflüssigkeit wurde unter Beobachtung der Aseptik und Antiseptik einem Hund mit starkem Hydrops ascites durch Punktion entnommen. Sie stellte kein reines Transsudat, sondern einen durch Peritonitis komplizierten Erguss in die Bauchhöhle dar, welcher schon seit mehreren Wochen darin ausgeschieden und durch Beimischung roter Blutkörperchen rötlich gefärbt war. Dieses Exsudat enthielt daher auch relativ mehr Eiweiss und Zellen als das gewöhnliche Transsudat. Wenn auch die Ascitesflüssigkeit ärmer an Eiweiss ist als das Blutserum, so kann man doch schon bei diesen Versuchen in vitro den Einfluss des Eiweissgehaltes und der Alkalien auf die Formaldehyd abspaltenden Antiseptika feststellen.

Aus der sterilen Ascitesflüssigkeit wurden mit sterilen Pipetten je 10 ccm in sterile Reagensgläser abgefüllt und in diesen wie bei den Versuchen mit Bouillon die betreffenden Konzentrationen hergestellt. Darauf wurde jede Probe mit je einer Oese Reinkultur von Bacterium pyocyaneum geimpft und in den Brutschrank gestellt; nach zwei Tagen wurden die klar gebliebenen Proben abgeimpft.

Das Wachstum des Pyocyaneus erfolgte in hetralinfreier Ascitesflüssigkeit in der Weise, dass die Kultur entweder nach 12 Stunden mässig stark grün fluorescierend war, mit einem zarten irisierenden Häutchen an der Oberfläche oder dass sie trüb durchscheinend, graugrün bis gelblichgrün aussah; am zweiten und am dritten Tage waren die Kulturen stärker grün gefärbt (+!). Unter dem Einfluss der zugesetzten Antiseptica konnte in den Kulturen das Wachstum des Pyocyaneus in der Weise verzögert werden, dass am 1., 2., 3. und auch 4. Tage ein feines Irishäutchen an der Oberfläche und leichte Trübung und Flocken entstanden (+); oder es konnte das Wachstum ganz verhindert werden. — Auf Tabelle 28 sind diese Einflüsse des Hetralins auf das Wachstum des Pyocyaneus in steriler Ascitesflüssigkeit ausgedrückt.

TABELLE 28.

Hetralin in steriler Ascitesflüssigkeit geimpft mit Pyocyaneus.
Ausgeführt am 7. XI. 05. 8 h abends.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind g Hetralin	Wachstum des Pyocyaneus am 8. XI.	9. XI.	10. XI.	11. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 9. 10.	11.
1 : 40	0,25	—	—	—	—		
1 : 60	0,165	—	—	—	—		
1 : 80	0,125	—	—	—	—	—	—
1 : 90	0,111	—	—	—	—	—	—
1 : 100	0,1	—	—	—	—	—	—
1 : 200	0,05	—	+	+	+	+	+!
1 : 300	0,033	—	+	+	+	+	+!
1 : 400	0,025	+	+	+	+!	+	+!
1 : 500	0,02	+	+	+	+!	+	+!
1 : 600	0,0165	+	+	+	+!	+	+!
1 : 700	0,0143	+	+	+!		+	+!
1 : 800	0,0125	+	+	+!		+!	+!
1 : 900	0,0111	+!	+!	+!		+!	+!
1 : 1000	0,01	+!	+!	+!			
1 : 2000	0,005	+!	+!	+!			
1 : 3000	0,0033	+!	+!	+!			
1 : 4000	0,0025	+!	+!	+!			
1 : 5000	0,002	+!	+!	+!			

Die antiseptische Wirkung des Hetralins war somit in der Ascitesflüssigkeit keine sehr grosse; das findet jedoch seinen Grund einerseits darin, dass bei der stark alkalischen Reaktion des Exsudates infolge seines reichlichen Gehaltes an Chlornatrium, phosphorsaurem, kohlensaurem und schwefelsaurem Natron das Hetralin langsamer zersetzt und Formaldehyd träger abgespalten wird; andererseits ist es sehr wahrscheinlich, dass ein Teil des abgespaltenen Formaldehyds sich an die Eiweisskörper der Bauchwasserflüssigkeit bindet. Neben der relativ geringen Formaldehydabspaltung und der teilweisen Bindung desselben an Eiweiss kommt als weiteres ungünstiges Moment für die desinfektorische Eigenschaft des Hetralins in Ascitesflüssigkeit der Umstand hinzu, das Pyocyaneus auf alkalischen Nährboden sehr gutes Wachstum zeigte. So erhielt ich erst bei einer Konzentration 1 : 100 mit einem Hetralingehalt 0,1 g eine antiseptische Wirkung. Von 1 : 200 bis 1 : 600 und noch mehr bei 1 : 700 und 1 : 800 war das Wachstum des Pyocyaneus verzögert und bei einer Verdünnung von 1 : 900 und schwächer bestand ungehindertes Bacteriumwachstum.

b. Verhalten des Resorcins in steriler und mit Bacterium pyocyaneum geimpfter Ascitesflüssigkeit.

Ich stellte mir eine 10 %, 1 % und 1‰ Stammlösung aus Resorcin her und setzte sie in den betreffenden Mengen der sterilen Probe von Ascitesflüssigkeit zu. Bei den Konzentrationen über 1 : 100 wurden zu 5,0, 7,5, 8,35, 8,57, u. s. f. ccm Ascitesflüssigkeit aus der 10%igen Stammlösung mit sterilen Pipetten 5,0, 2,5, 1,65, 1,43 u. s. f. ccm abgemessen; bei den schwächeren Konzentrationen wurden zu je 10 ccm des Exsudates aus der 1% und von 1 : 1000 ab aus der 1‰ Stammlösung jeweils 1,0, 0,5, 0,33, u. s. f. ccm zugefügt. Die einfallenden Tropfen der Resorcinlösung erzeugten in den stärkeren Konzentrationen eine milchige Trübung, von 1 : 100 ab eine schwache Opalescens.

TABELLE 29.

Resorcin in steriler Ascitesflüssigkeit geimpft mit Pyocyaneus. Ausgeführt am 11. XI. 05. 7 h abends.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind g Resorcin	Wachstum des Pyocyaneus am 12. XI. 8 h	13. XI. 9 h	14. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 13. XI. 14.	15.
1 : 20	0,5	—	—	—		
1 : 40	0,25	—	—	—		
1 : 60	0,165	—	—	—		
1 : 70	0,143	—	—	—	—	—
1 : 80	0,125	—	—	—	—	—
1 : 100	0,1	—	—	—	—	—
1 : 200	0,05	—	—	—	—	—
1 : 300	0,033	—	—	—	—	+!
1 : 400	0,025	+	+	+	+	+!
1 : 500	0,02	+	+	+		
1 : 600	0,0165	+	+	+		
1 : 700	0,0143	+	+	+		
1 : 800	0,0125	+	+	+		
1 : 900	0,0111	+	+	+		
1 : 1000	0,01	+!	+!	+!		
1 : 2000	0,005	+!	+!	+!		
1 : 4000	0,0025	+!	+!	+!		
1 : 6000	0,00165	+!	+!	+!		

Die Wirkung des Resorcins auf Pyocyaneus in Ascitesflüssigkeit ist aus der Tabelle 29 leicht ersichtlich.

Bei der Konzentration 1 : 200 trat eine antiseptische und bei 1 : 300 eine kolyseptische Wirkung ein. In den stärkeren Verdünnungen war das Wachstum des Pyocyaneus verzögert und bei 1 : 1000 und noch stärkerer Verdünnung trat deutliches Wachstum ein.

c. Verhalten des Urotropins in steriler und mit Bacterium pyocyaneum geimpfter Ascitesflüssigkeit.

Ich verwendete zu diesen Versuchen dieselbe eiweissreiche und stark alkalische Ascitesflüssigkeit wie in den beiden Versuchen vorher und stellte in ihr mit frisch bereiteten Urotropinstammlösungen die verschiedenen Konzentrationen her. Der antiseptische Effekt des Urotropins ist aus der Tabelle 30 zu ersehen.

TABELLE 30.

Urotropin in steriler Ascitesflüssigkeit geimpft mit Pyocyaneus. Ausgeführt am 7. XI. 05. 6 h. V. M.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind g Urotropin	Wachstum des Pyocyaneus am 8. XI. 9 h. V. M.	9. XI. 8. h.	10. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 9. XI. 10.	11.
1 : 10	1,0	—	—	—	—	—
1 : 20	0,5	—	+	+!	+!	+!
1 : 30	0,33	+	+	+!	+!	+!
1 : 40	0,25	+	+	+!	+!	+!
1 : 50	0,2	+	+	+!	+!	+!
1 : 60	0,165	+	+	+!	+!	+!
1 : 70	0,143	+	+	+!		
1 : 80	0,125	+	+	+!		
1 : 90	0,111	+	+	+!		
1 : 100	0,1	+	+	+!		
1 : 200	0,05	+	+	+!		
1 : 400	0,025	+!	+!	+!		
1 : 500	0,02	+!	+;	+!		
1 : 600	0,0165	+!	+!	+!		
1 : 800	0,0125	+!	+!	+!		
1 : 1000	0,01	+!	+!	+!		
1 : 2000	0,005	+!	+!	+!		
1 : 4000	0,0025	+!	+!	+!		

Schon bei der Konzentration 1 : 400 und schwächer konnte sich das Bacterium pyocyaneum ungestört entwickeln; bei stärkeren Konzentrationen bis 1 : 20 war das Wachstum verzögert und erst bei der Konzentration 1 : 10 trat eine antiseptische Wirkung ein. Dieser geringe Desinfektionswert des Urotropins in Ascitesflüssigkeit erklärt sich einerseits daraus, dass das Urotropin gegenüber dem Hetralin in alkalischen Flüssigkeiten noch viel träger Formaldehyd abspaltet, welcher in der Ascitesflüssigkeit sich noch teilweise an Eiweiss bindet, und dass andererseits Pyocyaneus auf alkalischen Nährmedien sehr gut wächst.

Die geringe Formaldehydabspaltung des Urotropins in den stärkeren Konzentrationsgraden wurde auch durch den undeutlichen Ausfall der Jorissen'schen Reaktion (3 // s und 3 // t) bestätigt gefunden.

5. Hetralin, Resorcin und Urotropin im alkalischen Harn.

a. Verhalten des Hetralins im alkalischen und mit Bacterium pyocyaneum geimpften Harn.

Der Harn von Hunden, welche in der Klinik für kleinere Haustiere mit Magermilch, Reis, Brot und Hundekuchen gefüttert wurde, ist bei den meisten Tieren einige Stunden nach der Mahlzeit alkalisch. Von solchem Hundeharn beschaffte ich mir eine grössere Menge, kochte, filtrierte und sterilisierte den Harn und füllte ihn aus dem Treskow'schen Abfülltrichter zu je 10 ccm in sterile Reagensgläschen ab.

Wurden diese Proben mit Pyocyaneus geimpft in den Brutschrank gestellt, so zeigten sich nach 12 Stunden an der Oberfläche und Reagensglaswandung kleine, graue Pilzrasen; nach 36 Stunden war die ganze Kultur trüb, grün-gelb, mit einer Kahmhaut auf der Oberfläche (+!). In abgeschwächten Kulturen bildete sich am 2. oder 3. Tage nur ein zartes Häutchen auf der Oberfläche, die Probe selbst blieb klar (+). Ich stellte in den 10 ccm Proben aus alkalischem Harn in der oben angegebenen Weise nachfolgende Konzentrationen her, impfte sie mit Pyocyaneus und verzeichnete das Ergebnis der Impfung auf Tabelle 31.

TABELLE 31.

Hetralin in alkalischem Harn geimpft mit Pyocyaneus.
Ausgeführt am 17. XI. 05. 7 h. abends.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind g Hetralin	Wachstum des Pyocyaneus 18. XI. 8 h. V. M.	19. XI. 8 h.	20. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 19. X. 20.	21.
1 : 20	0,5	—	—	—		
1 : 40	0,25	—	—	—		
1 : 60	0,165	—	—	—		
1 : 80	0,125	—	—	—		
1 : 100	0,1	—	—	—		
1 : 200	0,05	—	—	—	—	—
1 : 300	0,033	—	—	—	—	—
1 : 400	0,025	—	—	—	—	—
1 : 500	0,02	—	—	—	+!	+!
1 : 600	0,0165	—	—	+	+!	+!
1 : 800	0,0125	—	—	+	+!	+!
1 : 900	0,0111	—	—	+!	+!	+!
1 : 1000	0,01	—	+	+!	+!	+!
1 : 1500	0,006	+!	+!	+!		
1 : 3000	0,0033	+!	+!	+!		
1 : 4000	0,0025	+!	+!	+!		
1 : 6000	0,00165	+!	+!	+!		
1 : 7000	0,00143	+!	+!	+!		

Die stärkeren Hetralinkonzentrationen bewiesen wieder die schwere Löslichkeit des Hetralins. Bei 1 : 20 und 1 : 40 waren die Proben am ersten Tage flockig, getrübt und schmutzig gelbbraun, am zweiten Tage hatte sich ein reichlicher flockiger Niederschlag abgesetzt und am dritten Tage waren die Proben wie auch diejenigen bis 1 : 100 undurchsichtig, trüb, schmutzigbraun. Die Konzentrationen 1 : 60 bis 1 : 100 waren am ersten und zweiten Tage durchscheinend, schmutzig, braungelb. Auch die schwächeren, klar gebliebenen Konzentrationen dunkelten ein wenig nach.

Die desinfektorische Wirkung des Hetralins äusserte sich in der Weise, dass bei der Konzentration 1 : 400 Bacterium pyocyaneum abgetötet und bei 1 : 500 in seiner Entwickelung gehemmt wurde. Bis zu einer Verdünnung von 1 : 1000 war das Wachstum des Pyocyaneus verzögert, und von 1 : 500 ab war es ungestört.

b. Verhalten des Resorcins im sterilem, alkalischen und mit Bacterium pyocyaneum geimpften Harn.

Ich stellte in demselben gekochten, filtrierten und sterilisierten Hundeharn die Konzentrationen her und infizierte sie mit einer Oese Reinkultur von Pyocyaneus. Tabelle 32 zeigt die Ergebnisse dieser Impfungen an.

TABELLE 32.

Resorcin im alkalischen Harn geimpft mit Pyocyaneus.
Ausgeführt am 19. XI. 05. 8 h. abends.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind g Resorcin	Wachstum des Pyocyaneus 20. XI. 9 h. V. M.	21. XI. 9 h.	22. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 22. XI. 23.	24.
1 : 40	0,25	—	—	—		
1 : 60	0,165	—	—	—		
1 : 80	0,125	—	—	—		
1 : 100	0,1	—	—	—		
1 : 200	0,05	—	—	—	—	—
1 : 300	0,033	—	—	—	—	—
1 : 400	0,025	—	—	—	—	—
1 : 500	0,02	—	—	—	—	—
1 ; 600	0,0165	—	—	—	+!	+!
1 : 700	0,0143	—	—	+!	+!	+!
1 : 800	0,0225	—	—	+!	+!	+!
1 : 900	0,0111	+	+!	+!		
1 : 1000	0,01	+!	+!	+!		
1 : 2000	0,005	+!	+!	+!		
1 : 4000	0,0025	+!	+!	+!		
1 : 6000	0,00165	+!	+!	+!		
1 8000	0,00125	+!	+!	+!		

Das Resorcin erreichte in diesem Nährmedium seine höchste Desinfektionskraft gegen Bacterium pyocyaneum. Der Grund hierfür ist wohl darin zu suchen, dass das Bacterium in dem gekochten und sterilisierten Harn sich nur langsam und schlecht entwickeln konnte.

Wie die Tabelle 32 zeigt, wurde Pyocyaneus bei einer Konzentration von 1 : 500 abgetötet und bei 1 : 600 in seiner Entwickelung gehemmt. Zwischen den Konzentrationsgraden 1 : 700 bis 1 : 900 bestand verzögertes Wachstum und von 1 : 1000 an deutliches Bacterienwachstum.

c. Verhalten des Urotropins in sterilem, alkalischen und mit Bacterium pyocyaneum geimpften Harn.

In demselben sterilisierten alkalischen Hundeharn der beiden vorhergehenden Versuche wurden auch die verschiedenen Konzentrationsgrade mit Urotropin hergestellt, deren Impfresultat ich auf Tabelle 33 verzeichnet habe.

TABELLE 33.

Urotropin in alkalischem Harn geimpft mit Pyocyaneus.

Ausgeführt am 14. XI. 05. 7 h abends.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind g Urotropin	Wachstum des Pyocyaneus am 15. XI. 8 h	16. XI. 9 h	17. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 16. XI. 17.	18.
1 : 10	1,0	—	—	—		
1 : 20	0,5	—	—	—		
1 : 30	0,33	—	—	—	—	—
1 : 40	0,25	—	—	—	—	—
1 : 50	0,2	—	—	—	—	—
1 : 60	0,165	—	—	—	+!	+!
1 : 70	0,143	—	—	+	+!	+!
1 : 80	0,125	—	—	+	+!	+!
1 : 90	0,111	—	+	+!	+!	+!
1 : 100	0,1	—	+!	+!		
1 : 200	0,05	+!	+!	+!		
1 : 300	0,033	+!	+!	+!		
1 : 400	0,025	+!	+!	+!		
1 : 500	0,02	+!	+!	+!		
1 : 600	0,0165	+!	+!	+!		
1 : 800	0,0125	+!	+!	+!		
1 : 1000	0,01	+!	+!	+!		

Der geringe Desinfektionswert des Urotropins gegenüber dem Hetralin ist auf die schon angeführte träge Formaldehydabspaltung des Urotropins zurückzuführen.

Ich hatte nach der Tabelle 33 mit Urotropin im alkalischen Harn bei Konzentration 1 : 50 eine antiseptische und bei 1 : 60

eine kloyseptische Wirkung zu verzeichnen: zwischen den Konzentrationsgraden 1 : 70 bis 1 : 100 beobachtete ich verzögertes Bacterienwachstum und bei 1 : 200 und stärkerer Verdünnung eine freie Entwickelung des Pyocyaneus. Wenn ich trotzdem im Urotropinharn bei einer Verdünnung 1 : 300 mit der Jorissenschen Reaktion, der sauren Phenylhydrazinprobe und der Ferricyankaliprobe deutlichere Reaktionen erhielt als im Hetralinharn bei der gleichen Konzentration, nachdem beide 18 Stunden lang im Brutschrank gestanden waren, so kann der Grund hierfür nur darin liegen, dass bei dem Urotropin die Entwickelung von Formaldehyd nur langsam vor sich ging und letzteres sich grösstenteils mit den normalen Harnbestandteilen verband, während im Hetralin die Formaldehydabspaltung rasch erfolgte und Formaldehyd sich auch an das Protoplasma der Bakterienleiber binden konnte.

Es kommt also, wie Impens (55) sagt, auf die Geschwindigkeit der formaldehydabspaltenden Wirkung an, so dass genügende Mengen Formaldehyd nach der Bindung noch für die weitere Bindung parat sind. Auch ist, wie ich öfter gefunden habe, der deutliche Nachweis von Formaldehyd in einer Flüssigkeit nicht immer gleich bedeutend für die baktericide Wirkung derselben, sondern es ist immer erst das Ergebnis der Impfung massgebend.

6. Hetralin, Resorcin und Urotropin in saurem Harn.

a. Verhalten des Hetralins in sterilem, sauren und mit Pyocyaneus geimpften Harn.

Da der saure Hundeharn durch Kochen und Sterilisieren alkalische Reaktion annahm und der Harn überhaupt durch das Kochen und Sterilisieren in seiner normalen Beschaffenheit sich verändern musste, so verfuhr ich bei diesen Versuchen in folgender Weise: Ich liess selbst eiweissfreien, sauer reagierenden Harn unter Beobachtung steriler Kautelen in einen sterilisierten Kolben und entnahm daraus mit sterilen Pipetten je 10 ccm Harn, welcher in sterile Reagensgläser abgefüllt wurde. In den 10 ccm Proben wurden sodann die verschiedenen Hetralinkonzentrationen in der angegebenen Weise hergestellt und diese mit Pyocyaneus geimpft. In den hetralinfreien geimpften Proben zeigte sich nach 12 Stunden ein zartes Häutchen auf der Oberfläche, leichte Trübung und von oben her mässig starke Grünfärbung; nach 36 Stunden war die

ganze Kultur grün fluorescierend (+!); bei verzögertem Bacterienwachstum bildeten sich am 1., 2. oder 3. Tage auf der Oberfläche leichte, grüne, an der Gefässwandung anhaftende Pilzrassen (+).

TABELLE 34.

Hetralin in saurem Harn geimpft mit Pyocyaneus.
Ausgeführt am 26. XI. 05. 7 h abends.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind g Hetralin	Wachstum des Pyocyaneus am 27. XI. 8 h V. M.	28. XI. 8 h	29. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 28. XI. 29.	30.
1 : 40	0,25	—	—	—		
1 : 60	0,165	—	—	—		
1 : 80	0,125	—	—	—		
1 : 90	0,111	—	—	—		
1 : 100	0,1	—	—	—		
1 : 200	0,05	—	—	—		
1 : 300	0,033	—	—	—	—	—
1 : 400	0,025	—	—	—	—	
1 : 500	0,02	—	—	—	—	—
1 : 600	0,0165	—	—	—	—	—
1 : 700	0,0143	—	—	—	—	+!
1 : 800	0,0125	—	—	+	+	+!
1 : 900	0,0111	—	—	+	+	+!
1 : 1000	0,01	+	+!	+!	+!	+!
1 : 1500	0,006	+	+!	+!		
1 : 2000	0,005	+	+!	+!		
1 : 3000	0,0033	+!	+!	+!		
1 : 4000	0,0025	+!	+!	+!		
1 : 5000	0,002	+!	+!	+!		
1 : 6000	0,00165	+!	+!	+!		

Nach diesen Versuchen war die bactericide Wirkung des Hetralins im sauren Harn am grössten, entsprechend der stärkeren Formaldehydabspaltung im sauren und an sauren Salzen reichen Substrat. Erst von einer Verdünnung 1 : 3000 an konnte sich Bacterium pyocyaneum ungeschwächt fortentwickeln, während es bis zu einer Hetralinkonzentration von 1 : 800 verzögertes Wachstum zeigte. Bei 1 : 700 war es in seiner Entwickelung ganz verhindert und konnte sich erst nach Ueberimpfung auf alkalischen Nährboden wieder frei entfalten. Bei 1 : 600 und stärkeren Konzentrationsgraden trat völlige Abtötung des Pyocyaneus ein.

Auch hier zeigte sich in den stärkeren Konzentrationsgraden wie im alkalischen Harn ein Ausfall von grauen und graubraunen Flocken und ein mehr oder weniger starkes Nachdunkeln des Harns durch das Hetralin.

b. Verhalten des Resorcins in saurem und mit Bacterium pyocyaneum geimpften Harn.

Ich verwendete bei diesen Versuchen wieder meinen eigenen, steril abgefangenen, sauren Harn und stellte in der bekannten Weise die verschiedenen Konzentrationsgrade her. Darauf impfte ich die Proben mit Pyocyaneus und beobachtete dessen Wachstum in denselben. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind auf Tabelle 35 zusammengestellt.

TABELLE 35.

Resorcin in saurem Harn geimpft mit Pyocyaneus.
Ausgeführt am 28 XI. 05 8 h abends.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind g Resorcin	Wachstum des Pyocyaneus am 28. XI. 9 h	29. XI.	30. XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 29. XI. 30. XI.	1. XII.
1 : 40	0,25	—	—	—		
1 : 60	0,165	—	—	—		
1 : 80	0,125	—	—	—		
1 : 100	0,1	—	—	—	—	—
1 : 200	0,05	—	—	—	—	—
1 : 300	0,033	—	—	—	—	—
1 : 400	0,025	—	—	—	+	+!
1 : 500	0,02	—	—	+	+	+!
1 : 600	0,0165	—	—	+	+	+!
1 : 800	0,0125	+	+	+!	+!	+!
1 : 900	0,0111	+	+	+!	+!	+!
1 : 1000	0,01	+	+	+!	+!	+!
1 : 1500	0,006	+	+!	+!		
1 : 2000	0,005	+!	+!	+!		
1 : 3000	0,0033	+!	+!	+!		
1 : 4000	0,0025	+!	+!	+!		
1 : 6000	0,00165	+!	+!	+!		
1 : 8000	0,00125	+!	+!	+!		

Das Resorcin hatte im sauren Harn die gleiche antiseptische Wirkung wie in saurer Bouillon. Bei den Konzentrationen 1 : 300 war eine antiseptische und bei 1 : 400 eine kolyseptische Wirkung zu verzeichnen. Zwischen 1 : 500 und 1 : 1500 war das Wachstum des Pyocyaneus verzögert und von 1 : 2000 ab war es unbehindert.

c. Verhalten des Urotropins in sterilem sauren und mit Bacterium pyocyaneum geimpften Harn.

Ich stellte in demselben sauren Harn, wie ich ihn bei Hetralin verwendete, die betreffenden Urotropinkonzentrationen in der angeführten Weise her und untersuchte sie auf die desinfektorische

Wirkung des Urotropins gegenüber dem Bacterium pyocyaneum. Wie die Tabelle 36 zeigt, erreichte ich mit Urotropin im sauren Harn den höchsten antiseptischen Effekt.

TABELLE 36.

Urotropin in saurem Harn geimpft mit Pyocyaneus.
Ausgeführt am 26. XI. 05 7 h. abends.

Konzentration	In 10 ccm Probe sind g Urotropin	Wachstum des Pyocyaneus 27. XI. 8 h.	28. XI. 9 h. V. M.	29 XI.	Wachstum nach Ueberimpfung am 28. XI. 29.	30.
1 : 40	0,25	—	—	—		
1 : 60	0,165	—	—	—		
1 : 80	0,125	—	—	—		
1 : 100	0,1	—	—	—		
1 : 200	0,05	—	—	—		
1 : 400	0,025	—	—	—		
1 : 500	0,02	—	—	—		
1 : 600	0,0165	—	—	—	—	—
1 : 700	0,0143	—	—	—	—	—
1 : 800	0,0125	—	—	—	—	—
1 : 900	0,0111	—	—	—	—	—
1 : 1000	0,01	—	—	—	+	+!
1 : 1500	0,006	+	+!	+!	+!	+!
1 : 2000	0,005	+	+!	+!		
1 : 3000	0,0033	+!	+!	+!		
1 : 4000	0,0025	+!	+!	+!		
1 : 6000	0,00165	+!	+!	+!		
1 : 8000	0,00125	+!	+!	+!		

Nach den in der Tabelle 36 aufgezeichneten Untersuchungen trat bei einer Konzentration von 1 : 3000 freies Bacterienwachstum ein; bei 1 : 2000 und 1 : 1500 war das Wachstum des Pyocyaneus verzögert, bei 1 : 1000 wurde er in seiner Entwickelung verhindert und bereits bei einer Konzentration von 1 : 900, mit einem Urotropingehalt von 0,011 g, wurde Pyocyaneus abgetötet. Wenn wir in früheren Versuchen eine träge Formaldehydabspaltung des Urotropins in alkalischen Flüssigkeiten beobachten konnten und es als einen Nachteil in der Wirkung des Urotropins gegenüber derjenigen des Hetralins ansehen mussten, so trat bei den auf Tabelle 36 verzeichneten Versuchen die formaldehydabspaltende Wirkung des Urotropins, unterstützt durch die Harnsäure und die harnsauren Salze, im menschlichen Harn vorteilhaft hervor. Der antiseptische Effekt ist hier beim Urotropin beinahe um ebensoviel grösser als im Hetralin weniger Urotropin enthalten ist, denn in 10 g Hetralin sind etwa 6 g Urotropin enthalten; eine antiseptische Wirkung aber im sauren Harn trat bei ersterem erst bei einer

Konzentration 1 : 600 bei letzteren dagegen bei 1 : 900 ein. Dieser Befund gestattet weiterhin den Schluss, dass im sauren Harn, in vitro wenigstens, die Wirkung des Hetralins durch das in ihm enthaltene Dioxybenzol nicht unterstützt wird. Es ist sogar zu verwundern, dass bei diesen Versuchen auf künstlichen Nährböden die desinfektorische Wirkung des Resorcins in seiner Verbindung mit Urotropin nicht hervortrat, wo doch Resorcin in allen Nährmedien eine ziemlich starke antiseptische Wirkung auf den Pyocyaneus entfaltete. Ich möchte daher nochmals die noch offene Frage berühren, ob es nicht möglich ist, dass bei der Formaldehydabspaltung des Hetralins gleichsam in statu nascendi sowohl im vitro als im Tierkörper ein Kondensationsprodukt des Formaldehyds mit dem Resorcin entsteht.

TABELLE 37.

Ueber die desinfektorische Wirkung von Hetralin, Resorcin und Urotropin in verschiedenen Nährmedien.

Präparat	Bakterienwachstum	Wachstumverzögerung	Wachstumverhinderung	Abtötung	Substrat
Hetralin	1 : 900	1 : 800 – 1 : 500	—	1 : 400	alkalische Bouillon
Resorcin	1 : 2000	1 : 1000 – 1 : 600	1 : 500	1 : 400	
Urotropin	1 : 30	1 : 20	1 : 10	—	
Hetralin	1 : 600	1 : 500 – 1 : 400	—	1 : 300	neutrale Bouillon
Resorcin	1 : 5000	1 : 4000 – 1 : 500	1 : 400 – 1 : 300	1 : 200	
Urotropin	1 : 2000	1 : 1000 – 1 : 800	1 : 600	1 : 500	
Hetralin	1 : 600	1 : 400 – 1 : 200	—	1 : 100	angesäuerte Bouillon
Resorcin	1 : 2000	1 : 1000 – 1 : 500	1 : 400	1 : 300	
Urotropin	1 : 800	1 : 700 – 1 : 200	—	1 : 100	
Hetralin	1 : 900	1 : 800 – 1 : 200	1 : 100	1 : 90	Ascitesflüssigkeit
Resorcin	1 : 1000	1 : 900 – 1 : 400	1 : 300	1 : 200	
Urotropin	1 : 400	1 : 200 – 1 : 20	—	1 : 10	
Hetralin	1 : 1500	1 : 1000 – 1 : 600	1 : 500	1 : 400	alkalischer Harn
Resorcin	1 : 1000	1 : 900 – 1 : 700	1 : 600	1 : 500	
Urotropin	1 : 200	1 : 100 – 1 : 70	1 : 60	1 : 50	
Hetralin	1 : 3000	1 : 2000 – 1 : 800	1 : 700	1 : 600	saurer Harn
Resorcin	1 : 2000	1 : 1500 – 1 : 500	1 : 400	1 : 300	
Urotropin	1 : 3000	1 : 2000 – 1 : 1500	1 : 1000	1 : 900	

Auf der Tabelle 37 habe ich die Ergebnisse meiner Untersuchungen über die desinfektorische Wirkung von Hetralin, Resorcin und Urotropin zusammengestellt, indem ich jeweils die betreffenden Konzentrationen, von welchen ab das Wachstum des Pyocyaneus unbeeinträchtigt blieb oder beeinflusst wurde, einzeichnete.

Es ergeben sich daraus folgende Schlüsse:

Der antiseptische Effekt des Resorcins ist in alkalischen, neutralen und sauren Nährmedien ziemlich konstant geblieben; er ist ungefähr so gross, wie derjenige des Hetralins.

Bei den formaldehydabspaltenden Antiseptica ist die desinfektorische Wirkung in sauren Flüssigkeiten — mit Essigsäure angesäuerte Bouillon ausgenommen — eine grössere als in alkalischen und neutralen. Die geringe antiseptische Wirkung von Hetralin und Urotropin in der angesäuerten Bouillon dürfte auf ihren Gehalt an Essigsäure zurückzuführen sein, welche wohl für die Entwickelung von Formaldehyd einen ungünstigeren Faktor bedeutet; die Desinfektionskraft des Resorcins ist dagegen in der angesäuerten Bouillon nicht herabgesetzt.

In alkalischen Flüssigkeiten übertrifft das Hetralin durch seine energische Formaldehydabspaltung die kolyseptische und antiseptische Wirkung des Urotropins ausserordentlich. In neutralen und sauren Flüssigkeiten ist die Desinfektionskraft des Urotropins grösser als diejenige des Hetralins; dass dabei Hetralin durch das ziemlich stark antiseptisch wirkende Resorcin unterstützt würde, ist nicht anzunehmen.

V. Feststellung des kolyseptischen und antiseptischen Wertes des nach internem Hetralingebrauch im Harn ausgeschiedenen Formaldehyds rücksichtlich seiner Beeinflussung des Wachstums von Bacterium pyocyaneum und der ammoniakalischen Harngährung.

An der Hand meiner Versuche über den Nachweis des Formaldehyds nach Aufnahme des Hetralins per os habe ich ausgeführt, dass bei der leichten Zersetzlichkeit des letzteren der Formaldehyd vom Darm aus resorbiert wird und, in der Niere wieder ausgeschieden, zum Teil als freier, zum Teil als gebundener Formaldehyd im Harn erscheint. Es ist mir ferner auch in vielen Fällen im Menschen- und Hundeharn der direkte Nachweis des Urotropins nach internem Hetralingebrauch mittels Auställung von Urotropindibromid und Urotropintetrabromid gelungen (1) und es ist daher anzunehmen, dass nach Einführung des Hetralins in den Tierkörper Urotropin zum Teil auch unzersetzt in den Harn übergeht, um hier nach Impens (55) allmählich aber kontinuierlich Formaldehyd abzuspalten. Der Formaldehyd bindet sich im Harn zunächst an normale Harnbestandteile und unter pathologischen Verhältnissen auch an das Protoplasma der Erreger der ammoniakalischen Harngährung oder an Eiweiss. Erst wenn ein gewisser Sättigungsgrad dieser Formaldehydverbindungen erreicht ist, kann der Formaldehyd auch in freier Form im Harn auftreten, und man darf dann mit Impens (55) auch annehmen, dass die Mikroorganismen im Harn getroffen sind und die Antisepsis schon zustande gekommen ist.

Formaldehyd beeinträchtigt schon in schwächsten Konzentrationen die Entwickelung von Mikroorganismen. Nach den Mitteilungen von Mosso und Paoletti (56) vermag schon ein Gehalt des Harns von 0,02 pro Mille Formaldehyd, den Eintritt der ammonikalischen Harngährung zu verzögern und 0,1 pro Mille, sie ganz zu verhindern. Nach Impens (55) muss man 0,04 pro Mille Formaldehyd zu einem sauren Urin setzen, um die ammoniakalische Gährung nach vorherigen Infektion einen Tag zu verzögern und 0,06 pro Mille, um sie definitiv zu verhindern.

In den nachfolgenden Versuchen stellte ich fest, welche minimale Dosis Hetralin pro kg Körpergewicht notwendig ist, um durch den im Harn auftretenden Formaldehyd eine kolyseptische oder antiseptische Wirkung auf Pyocyaneus auszuüben, und innerhalb welcher Zeit post applicationem diese Wirkung zu erreichen ist.

Gleichzeitig habe ich in den betreffenden Harnproben Formaldehydreaktionen ausgeführt, um aus der Stärke der Reaktionen auf die Grösse des Formaldehydgehaltes im Harn schliessen zu können. Endlich habe ich verschiedene Harnproben der Luftinfektion ausgesetzt, um eine Verzögerung oder eine Verhinderung des Eintrittes der ammoniakalischen Harngährung bestimmen zu können.

Dabei verfuhr ich in folgender Weise: Da nach den vorstehenden Versuchen vorauszusetzen war, dass das Verhalten des Hetralins im alkalischen Harn sich anders gestalten wird als im sauren, so wurde ein Teil der Versuchshunde mit Magermilch und Brot gefüttert, um einen alkalischen Harn zu erhalten; die anderen Tiere bekamen daneben Fleisch und lieferten somit einen sauren Harn.

Den Tieren wurde das Hetralin in verschieden grosser Menge und jeweils im Verhältnis zu ihrem Körpergewicht, in Wasser gelöst, mit der Schlundsonde eingegeben. Nach Verlauf verschiedener Stunden wurde ihnen mit dem Katheter steril Harn entnommen, von dem einige Proben mit Bacterium pyocyaneum geimpft und in den Brutschrank gestellt wurden, der andere Teil aber einer chemischen und physikalischen Untersuchung unterworfen wurde, bei einigen Versuchen wurden auch Proben der Luftinfektion ausgesetzt.

Hündinnen wurde zwecks besserer Harnentnahme das Perineum gespalten, sodass die Harnröhrenöffnung frei vorlag, wenn man den unteren Schamwinkel nach abwärts zog.

Meine Untersuchungen über die kolyseptische und antiseptische Wirkung des Hetralins nach Aufnahmen per os habe ich auf Tabelle 38 zusammengestellt; sie sind in der Weise angeordnet, das den Untersuchungsergebnissen im alkalischen Harn diejenigen im sauren Harn folgen und jeweils die kleinere Hetralindosis der grösseren vorangesetzt ist.

TABELLE 38.

Versuch Nr.	Hund Nr. Geschlecht, Alter, Gewicht	Dosis in toto	Dosis pro kg	Zeit der einzelnen Untersuchungen Tag Mon.	Zeit der einzelnen Untersuchungen Std. Min.	Mastdarmtemparatur	Harnreaktionen	Formal Jorissen
XIII	Nr. 3 Halbhund ♂ 1 Jahr, 15 kg, gesund	0,15 gegeben 11 30	0,01	21./XI.	2 30	38,9	schwach alkalisch	6 Orange 6
				21./XI.	4 30	38,7	alkalisch	negativ
XIV	Nr. 8 Spitz ♀ 2 Jahre, 8 kg, Cystites ammoniacalisch	0,08 gegeben 3 30	0,01	15./XI.	3 30	38,6	ammoniak.	„
				15./XI.	5 30	38,6	„	„
XI	Nr. 7 Schnauzer ♂ 1½ Jahre, 16 kg, Hydrops Ascites, Hydropericard, Hydrops anasarka, Struma	0,32 gegeben 12 M.	0,02	13./XI.	3—	38,6	schwach alkalisch	—
				14./XI.	8 VM.	38,4	schwach alkalisch	5 Orange 5
XV	Nr. 4 Fox ♀ 1½ Jahre, 10 kg, gesund	0,3 gegeben 10 55	0,03	24./XI.	12 05	38,8	schwach alkalisch	negativ
				24. XI.	2 15	38,8	neutral	3 Zinn. 3
				24./XI.	6—	38,7	sauer	4 Orange 4
				25./XI.	12— M.	38,5	alkalisch	6 Orange 6
XVI	Derselbe	0,3 gegeben 11 h V. M.	0,03	18./XI.	2 30	38,8	neutral	—
				18./XI.	5 30	38,7	schwach alkalisch	—
VI	Derselbe	3,0 gegeben 2 45	0,3	27./XI.	5—	39,2	neutral	2 Zinn. 2
				28./XI.	8 30	38,6	alkalisch	negativ
				28./XI.	5 20		alkalisch	„
XVII	Nr. 1 Dachs ♀ 1½ Jahre, 6 kg, gesund	0,03 gegeben 9 h V. M.	0,005	27./XI.	11—	38,3	sauer	„
				27./XI.	2 30	38,2	sauer	„
VII	Derselbe	0,06 gegeben 12 h. M.	0,01	23./XI.	3—	38,4	sauer	6 Orange
				23./XI.	6—	38,3	sauer	6 Orange
				24./XI.	8 30 V. M.	38,5	sauer	negati

TABELLE 38.

dehyd-Nachweis im Harn			Wachstum des Bact. pyocyaneum im Harn	Wachstum nach Ueberimpfung auf alkal. Bouillon	Bemerkungen über Störungen des Allgemeinbefindens etc.
re Phenyl-ydrazin-probe	Ferricyan-kaliumprobe	Nitro-prussid-probe			
Carm. 30//l	1 Zinnober i//l	Leg.React.	am 22./XI. —	abg.am23./XI.	Keine Störungen
			am 23./XI. +	am 24./XI. +!	
			am24./XI. Grünf.		
negativ	negativ	,,	am 22./XI. +	—	,, ,,
			am 23./XI. +!	—	
,,	,,	,,	—	—	Geringe Temparaturerhöhung.
Carm. 30//h	1 Zinnober i//l	,,	am 16./XI. +	-	Bei der Hündin lag, weil Perineum aufgeschnitten, seit längerer Zeit die Harnröhre frei vor, daher wohl die ammoniakalische Reaktion.
			am 17./XI. +	—	
—	2 Zinn. 2//n	-	am 14./XI. —	am15./XI.abg.	
			am 15./XI. —	am 16./XI. +	
			am 16./XI. —	am 17./XI. +!	
Zinn. 1//h	4 Orange 4//n	Leg.React.	am 15./XI. +		Harn dunkelgelb
?			am 16./XI. +		
Zinn. 1//h	4 Orange 4//n	,,	—	—	Keine Störungen
?	(30') 2//m				
Purpur25//g	30 Carm. 30//k	—	am 25./XI. —	am26./XI.abg.	
			am 26./XI. —	am 27./XI. —	
			am 28 /XI, -	am 28./XI. —	
Purp. 25//e	30 Carm. 30//k	-	am 25./XI. -	am26./XI.abg.	
			am 26./XI. —	am 27./XI. +!	
			am 27./XI. +		
negativ	3 Zinn. 3//l	Leg.React.	am 26./XI. +	—	
			am 27./XI. +!	—	
-	30 Carm. 30//k	-	am 19./XI. -	am21./XI.abg.	Harn der ersten Probe dunkelte stark nach.
			am 20./XI. —	am 22./XI. —	
			am 21./XI. —	am 24./XI. —	
Carm. 28//l	29 Carm. 29//k	—	am 19./XI. +!	—	
			am 20./XI. +!	-	
Carm. 29//h	1 Zinn. 1//l	blaugrün	am 28./XI —	am28./XI.abg.	Erste Harnprobe rotgelb,
	(15') 28//i		am 29./XI. —	am 29./XI. —	zweite Harnprobe dunkelgelb; kein Eiweiss.
				am 30./XI. —	
negativ	4 Orange 4//n	Leg.React.	am 29./XI. +	—	In der ersten Stunde Temparaturanstieg auf 39,7.
	(30') 2//n		am 1./XII. +	—	
,,	3 Zinn. 3//o	,,	am 29./XI. ?	-	in der zweiten Stunde Abfall; Erhöhung von Puls
	(40') 2//n		am 30./XI. +	—	und Atmung.
	?		am 1./XII. +!	-	
,,	6 Orange 6//p	,,	am 28./XI. +!	—	Keine Störungen.
	(15') 4//o		am 29./XI. +!	—	
	(60') 2//m				
,,	5 Orange 5//q	,,	am 28./XI. +	—	
	(1 Std.) 2//n		am 29./XI. +!	—	
	(2 Std.) 1//l				
Purpur 26//e	3 Zinn. 3//n	,,	am 24./XI. -	am25./XI.abg.	Keine Störungen.
	(20') 2//m		am 27./XI. —	am 26./XI. —	
				am 28./XI. —	
Purpur 26//g	3 Zinn. 3//n	,,	am 24./XI. —	am25./XI.abg.	
	(20') 1//m		am 25./XI.	am 27./XI. —	
			am 27./XI. —	am 28./XI. —	
negativ	4 Orange 4//o	,,	am 25./XI. ?	am26./XI.abg.	
	(20') 3//n		am 26./XI. +	am 27./XI. +	
	(60') 1//l		am 28./XI. +	am 29./XI. +	

TABELLE 38 (Fortsetzung).

Versuch Nr.	Hund Nr. Geschlecht, Alter, Gewicht	Dosis in toto	Dosis pro kg	Zeit der einzelnen Untersuchungen Tag Mon.	Zeit der einzelnen Untersuchungen Std. Min.	Mastdarmtemperatur	Harnreaktion	Formal- Jorissen
XVIII	Nr. 1 Dachs ♀ $1^1/_2$ Jahre, 6 kg, gesund	0,12	0,02	20./XI.	4^{30}	38,7	sauer	3 Zinn. 3//
		gegeben 2 h N. M.		20./XI.	6—	38,6	sauer	3 Zinn. 3//
				21./XI.	9— V. M.	38,5	schwach sauer	6 Orange 6/
VIII	Ich selbst, 68 kg	2,0	0,03	29./X.	11—	—	sauer	3 Zinn. 3//
		genommen 9 h V. M.		29./X.	12^{30}	—	stark sauer	3 Zinn. 3//
				29./X.	1^{30}	—	stark sauer	3 Zinn. 3//
				29./X.	3^{30}		sauer	3 Zinn. 3/
				29./X.	5^{45}	—	alkalisch	negativ
				29./X.	6^{45}	—	schwach alkalisch	negativ
					7^{45}	—	schwach sauer	6 Orange 6
				30./X.	8— V. M.		sauer	5 Orange 5
XII	Nr. 7 Schnauzer ♂, $1^1/_2$ Jahre, 13,5 kg, Hydrops ascites, Hydropericard, Struma hyperplastica	1,35	0,1	29./XI.	6—		amphoter	3 Zinn. 3/
		gegeben 10^{45} u. nochmals 1,35	0,1					
		gegeben 2^{45}						

TABELLE 38 (Fortsetzung).

dehydnachweis im Harn			Wachstum des Bact. pyocyaneum im Harn	Wachstum nach Ueberimpfung auf alkal. Bouillon	Bemerkungen über Störungen des Allgemeinbefindens etc.
re Phenyl-ydrazin-probe	Ferricyan-kaliumprobe	Nitro-prussid-probe			
Purpur25//f	30 Carm. 30//k	Leg.React.	am 21./XI. —	am22 /XI.abg.	Keine Störungen.
			am 22./XI. —	am 23./XI. —	
			am 24./XI. —	am 25./XI. —	
Purpur 26//h	30 Carm. 30//k	„	am 21./XI. —	am22./XI.abg.	
			am 22./XI. —	am 23./XI. —	
			am 23./XI. —	am 25./XI. —	
			am 24./XI. —	am 26./XI. —	
negativ	4 Orange 4//o (30') 2//m	„	am 22./XI. —	am23./XI.abg.	
			am 23./XI. ?	am 24./XI. +!	
			am 24./XI. ?		
Purpur 26//b	28 Carm. 28//i	grünbraun	am 30./X. —	am 31./X. abg.	Keine Störungen.
			am 31./X. +	am 1./XI. +	Der Harn, welcher 11 h gelassen wurde, dunkelte stark nach.
			am 2./XI. +	am 2./XI. +!	
Purpur 25//c	28 Carm. 28//i	blau	am 30./X. —	am 31./X. abg.	
			am 31./X. —	am 1./XI. —	
			am 2./XI. —	am 3./XI. —	
			am 5./XI. —	am 10./XI. —	
			am 15./XI. —		
Purpur 25//c	28 Carm. 28//i	blaugrün	am 30./X. ?	am 31./X. abg.	
			am 31./X. —	am 1./XI. —	
			am 1./XI. —	am 2./XI. +!	
			am 2./XI. +		
			am 5./XI. +		
Purpur 25//e	28 Carm. 28//k	blaugrün	am 30./X. +	am 31./X. abg.	
			am 31./X. +	am 1./XI. +!	
			am 1./XI. +		
			am 2./XI. +		
Carm. 28//i	30 Carm. 30//l	Leg.React.	am 30./X. +	am 31./X. abg.	
			am 31./X. +	am 1./XI. +!	
			am 1./XI. +!		
Carm. 29//k	2 Zinn. 2//n	„	am 30./X. +		
			am 31./X. +	—	
			am 1./XI. +!		
Carm. 29//h	1 Zinn. 1//m	„	am 30./X. +		
			am 31./X. +	—	
			am 1./XI. +!	—	
Purpur 26//e	29 Carm. 29//k	„	am 31./X. +	—	
			am 1./XI. +!	—	
Purpur 25//e	30 Carm. 30//k	braungrün	am 30./XI —	am1./XII.abg.	Geringe Temparatur-erhöhung (39,1).
			am 1./XII. —	am 2./XII. —	
			am 2./XII. —	am 3./XII. —	

Der kolyseptische und antiseptische Effekt im Harn hängt, wie die Tabelle 38 zeigt, ab von der Grösse der Hetralindosis und der Zeit, innerhalb welcher das Mittel nach seiner Applikation wirken konnte. Danach ergaben sich im alkalischen Harn folgende Befunde:

Bei einer Dosis von 0,01 pro kg Körpergewicht war weder nach 3 noch nach 5 Stunden post applicationem eine antiseptische Wirkung zu erreichen.

Bei 0,02 pro kg blieb der nach 3 Stunden entnommene und mit Pyocyaneus geimpfte Harn klar; aber nach Ueberimpfung auf alkalische Bouillon trat deutliches Wachstum des Pyocyaneus ein; der Harn erhielt demnach bei Hetralin 0,02 pro kg kolyseptische Eigenschaften. Harn, der nach 20 Stunden entnommen wurde, zeigte diese Eigenschaft nicht mehr.

Eine Hetralindosis von 0,03 verlieh dem nach $3^1/_2$ Stunden entnommenen Harn antiseptische Eigenschaften, welche in dem nach $6^1/_2$ und 7 Stunden gewonnenen Harn bereits nicht mehr anzutreffen waren.

Bei einer Dosis von 0,3 pro kg trat nach $2^1/_4$ Stunden im Harn Antiseptik ein, nach 18 Stunden jedoch nicht mehr.

Im sauren Harn erhielt ich eine grössere und längere Zeit andauernde desinfektorische Wirkung.

Bei 0,005 pro kg Körpergewicht war zwar dieselbe noch nicht zu erreichen, dagegen erhielt Harn, welcher 3 und 6 Stunden nach Eingabe von 0,01 pro kg gewonnen wurde, antiseptische Eigenschaften; nach 20 Stunden waren sie nicht mehr vorhanden.

Ebenso wurde bei einer Dosis von 0,02 Hetralin pro kg in dem nach $2^1/_2$ und 4 Stunden entnommenen Harn Pyocyaneus abgetötet.

Bei einer Dosis von 0,03 pro kg erhielt mein eigner Harn nach 2 Stunden noch keine, dagegen nach $3^1/_2$ Stunden stark antiseptische Eigenschaft; im Harn, der nach $4^1/_2$ Stunden abgesetzt wurde, war das Wachstum des Pyocyaneus verzögert und in den Harnproben, die nach $6^1/_2$ Stunden abgesetzt wurden, zeigte sich deutliches Bakterienwachstum.

Bei 0,2 pro kg war der Harn nach $3^1/_4$ Stunden antiseptisch. All diese Harnproben habe ich gleichzeitig auf ihren Formaldehydgehalt geprüft und konnte finden, dass in denjenigen Proben, welche durch einen deutlich positiven Ausfall namentlich der sauren Phenylhydrazinprobe auf das Vorhandensein von freiem

Formaldehyd hinwiesen, der Harn kolyseptische oder antiseptische Eigenschaften erhielt, welche mit der Abnahme der Formaldehydreaktionen ebenfalls verschwanden.

Die Zeit, innerhalb welcher die entnommenen Harnproben eine baktericide Wirkung zu entfalten vermochten, betrug $2^1/_4$ bis 6 Stunden post applikationem, entsprechend der Zeit der höchsten Formaldehydabspaltung im Harn.

Die antiseptische Wirkung des Harns nach internem Hetralingebrauch erstreckte sich jedoch nicht nur darauf, dass er künstlich hineingebrachte Mikroorganismen in seiner Entwickelung zu hemmen vermochte, sondern sie zeigte sich auch darin, dass der Harn, wenn er innerhalb 2-6 Stunden nach der Dareichung des Hetralins gelassen wurde, gährungswidrige Eigenschaften bekam. So blieben die Harnproben im Versuch VIII, S. 43 nach Einnahme von 2 g Hetralin in toto, 0,03 pro kg, steril, wenn sie innerhalb 2 bis $6^1/_2$ Stunden nach der Applikation abgesetzt wurden.

Die Proben wurden bei freiem Luftzutritt in den Brutschrank gestellt und nach 5, 10 und 20 Tagen wurde aus ihnen auf Bouillon übergeimpft, ohne dass in der Bouillon sich ein Wachstum von Bacterien zeigte. In der nach $6^1/_2$ Stunden abgesetzten Harnprobe siedelten sich bereits am dritten Tage Schimmelpilze an, was ich auch noch in anderen Hetralinharnen beobachtete. Diese innerhalb 2 bis 6 Stunden post applicationem gewonnenen Proben waren noch nach zwei Monaten wie zuvor klar, ohne Sedimentbildung; sie hatten nur alkalische Reaktion angenommen und etwas nachgedunkelt.

Im Versuch I, S. 24 hatte ich 1 g Hetralin in toto, 0,015 pro kg, eingenommen und der nach 1, $2^1/_2$ und 5 Stunden gelassenen Harn war bei der Zimmertemparatur sieben Tage lang vor der ammoniakalischen Gährung geschützt, wogegen nach Nicolaier (1) Urotropinharn bei einer Dosis von 1 bis 2 g Urotropin bei Zimmertemparatur fast ebenso schnell trübe und ammonikalisch wird als ein urotropinfreier Harn von der gleichen Konzentration und Reaktion. Auch bei einer Dosis von Hetralin 0,01 pro kg war Hundeharn der 2 bis 3 Stunden post applicationem entnommen wurde, gegen die ammoniakalische Harngährung geschützt.

Hetralin in einer Dosis von 0,005 pro kg vermochte jedoch dem Harn diese antiseptische Eigenschaft nicht mehr zu verleihen.

Ueber die desinfektorische Wirkung des Hetralins auf den Harn möchte ich daher, die Versuchsergebnisse zusammenfassend, behaupten:

Die antiseptische Wirkung des Hetralins ist im sauren Harn grösser als in alkalischen. Im alkalischen Harn tritt bei einer Dosis von 0,02 pro kg eine kolyseptische und bei 0,03 pro kg eine antiseptische Wirkung ein; der saure Harn erhält bereits bei 0,01 pro kg Körpergewicht antiseptische Eigenschaften. Die Zeit, innerhalb welcher im Harn diese Wirkung eintritt beträgt zweiundeinviertel bis sechs Stunden und entspricht der Zeit des stärksten Formaldehydnachweises im Harn.

Die genannten Minimaldosen pro kg Körpergewicht, bei welchen der Harn die Entwickelung von Mikroorganismen zu verhindern oder hintanzuhalten vermag, entsprechen etwa den kleinsten, beim Menschen gebräuchlichen Tagesgaben von 1½ bis 2 g. Das Hetralin darf somit als ein brauchbares Harnantiseptium gelten, dessen Vorzug besonders darin besteht, dass es auch im alkalischen Harn starke antiseptische Eigenschaften entfaltet.

VI. Feststellung der Reactionen des Tierkörpers auf verschieden hohe Dosen von Hetralin nach Abgabe per os.

In fast allen Veröffentlichungen über die therapeutische Wirksamkeit des Hetralins wird hervorgehoben, dass es von den Patienten auch längere Zeit gut ertragen wurde und dass keine Reizerscheinungen seitens des Magens und Darmkanals oder des Urogenitaltractus auftraten. Nur Goldberg (6) bezeichnet als eine Nebenwirkung des Urotropins und seiner Derivate die diuretische Wirkung desselben, „da bei Cystitis und Pyelitis die harnbildende Funktion der Nieren nicht beeinflusst zu werden braucht.“ Auch berichtet er, dass in einem Fall nach längerem Hetralingebrauch ein Patient allmorgens über dumpfe Kopfschmerzen klagte, welche sich aber später nicht mehr einstellten.

Auch beobachtete ich bei meinen Versuchen innerhalb der therapeutischen Dosen von Hetralin 0,01 bis 0.03 pro kg keine

besonderen Störungen des Allgemeinbefindens. Aber genau vorgenommene viertelstündliche Temparaturmessungen ergaben, dass schon durch kleine und mittlere Hetralingaben eine geringe Reaction des Tierkörpers hervorgerufen wurde; es trat bei 0,01 und 0,1 pro kg Körpergewicht dreiviertel Stunden nach der Darreichung des Hetralins eine geringe Temparatursteigerung auf 39,1 ° auf, welche ebenso allmählich wieder abnahm. (Versuch XIV. Tabelle 38 und Versuch XII.) Bei noch grösseren Dosen beobachtete ich neben der Temparatursteigerung zugleich eine Erhöhung der Puls- und Atemfrequenz. Nach einer Hetralindosis von 0,3 pro kg war bei dem Tier im Versuch VI, Tabelle 38 schon nach einer halben Stunde die Temparatur auf 39,6 angestiegen, nach einer Stunde betrug sie 39,7 nach einundeinhalb Stunden 39,1; zu gleicher Zeit stieg die Pulszahl von 116 auf 166 in der Minute. Auch die Atemzüge vermehrten sich von 24 auf 52 in der Minute. Mit der Abnahme der Körpertemparatur nach eineinhalb bis zwei Stunden kehrten auch Puls und Atmung wieder zu den normalen Verhältnissen zurück.

Bei derselben Dosis von 0,3 pro kg beobachtete ich ferner im Versuch II. kurz andauernde Diarrhöen und Polyurie. Noch höhere Dosen, wie 0,45 pro kg führten zu Hämaturie, Albuminurie und Oligurie, ferner zu Depression und ängstlichem Benehmen innerhalb der ersten Stunde und zu Durchfall. (Versuch III, S. 28.)

Mit einer Dosis von 0,5 pro kg traten in drei Fällen beim Hund deutliche Vergiftungserscheinungen auf, welche in einem Fall sogar zum Tod führten. Am Besten ertrug diese Menge von 0,5 pro kg noch der junge Schnauzer im Versuch IX, S. 50, worauf wohl auch der nach einer halben Stunde ausgeführte Aderlass günstig einwirkte; das Tier musste sich nur nach zweiundeinviertel Stunden unter heftigem Würgen erbrechen und erholte sich nach Verlauf mehrerer Stunden vollkommen.

Viel heftigere, das Leben des Tieres bedrohende Vergiftungserscheinungen habe ich im Versuch X. S. 51 beobachtet (s. dort.) Die auftretenden Intoxicationserscheinungen, wie Taumeln, plötzliches Zusammenstürzen, klonische und tonisch-klonische Krämpfe, Opisthotonus, Betäubung, Erhöhung der Körpertemparatur sowie der Puls- und Atemfrequenz, Erbrechen, Durchfall sprechen un-

zweideutig für Erscheinungen, wie sie bei Phenol- oder Resorcinvergiftungen beobachtet werden (57, 58, 59).

Dass der Hund im Versuch X sehr wahrscheinlich an der Vergiftung mit Hetralin zu Grunde gegangen wäre, wenn ihm nicht sofort antitoxische Mittel verabreicht worden wären, lehrt nachfolgender

toxischer Versuch.

Versuch XIX, 21. 10. 05. Langhaariger Griffon, ♀, 6 Jahre alt, 26 kg, an Otitis externa suppurativa chronica erkrankt, innerlich gesund, erhielt 3 h 12 m. Hetralin 0,5 pro kg — 13,0 in toto, gelöst in 200 ccm Wasser, mit der Schlundsonde. Vor der Application wurden mit dem Katheter 200 ccm normalen Harns entnommen.

Symptome: 3 h 12 m betrug Temparatur 39,0, Puls 108, Atmung 22; 3 h 28 m, also nach 16 Minuten begannen die ersten Vergiftungserscheinungen aufzutreten; es zeigte sich ein über den ganzen Körper ausgebreitetes, im Bereich der Nachhand heftigeres Muskelzittern, ferner trippelte das Tier auf der Stelle; sein Bewusstsein war noch nicht gestört, denn er gehorchte dem Lockruf und vergass das durch die Ohrenentzündung verursachte Schütteln mit dem Kopf noch nicht; der Arterienspuls war nicht mehr fühlbar, die Herzschläge betrugen 148 in der Minute. Alsbald zeigte das Tier einen schwankenden Gang und drohte bei leichtem Anstossen umzufallen; es machte einen scheuen und furchtsamen Eindruck und zeigte starken Speichelfluss. Die Herzaktion war stürmisch, der Puls jagend. Die Respiration war unregelmässig und erschwert; das Tier atmete 104 mal in der Minute. 3 h 40, also nach 28 Minuten fiel der Hund ruckartig auf die rechte Seite und vermochte nicht mehr aufzustehen. Es traten an allen vier Extremitäten heftige Zuckungen auf, stärker an den Hinterextremitäten. Mit der Vorhand versuchte das Tier sich aufzurichten, war jedoch infolge Parese der Nachhand dazu nicht fähig. Das Bewusstsein schwand mehr und mehr. 3 h 46 m traten tonische und bald darauf tonisch-klonische Krämpfe an den Extremitäten und tonische an den Kaumuskeln auf, ferner Einbiegen des Rückens und krampfhafte Rückwärtsbiegung des Halses (Opisthotonus). Die Pupillen waren erweitert, der Blick stier, Cornealreflex beinahe ganz aufgehoben. Der Hund atmete jetzt stossweise, röchelnd, er strampelte, am Boden liegend,

heftig mit den Füssen, auf die linke Körperseite gelegt, versuchte er, sich vorn emporzurichten, fiel jedoch immer wieder auf die rechte Seite. 3 h 55 m stellten sich bei dem platt auf dem Boden liegenden Tier heftige Laufbewegungen ein; es lief zuerst förmlich gestreckten Galopp und ging 5 Minuten darauf in starken Trab über. Von 4 h ab stellten sich wieder tonisch-klonische Krämpfe, stärker an den Hintergliedmassen als an den vorderen ein, abwechselnd mit vereinzelten Zuckungen und Strampelbewegungen der Extremitäten; ferner trat in den Gesichts- und Kaumuskeln ein tonisch-klonischer Krampf auf, so dass das Tier zu kläffen schien. Auf die linke Seite gelegt, bleibt es jetzt auf dieser liegen. Körpertemparatur 41,0. 4 h 15 trat in den Convulsionen plötzliche Ruhe ein. Das Herz schlug noch einige Minuten, doch immer langsamer, bis 4 h 18 m d. i. 66 Minuten post applicationem der Tod des Tieres erfolgte.

Die bei diesem Versuch auftretenden Intoxicationserscheinungen gleichen somit ebenfalls solchen, wie sie bei Vergiftungen mit Phenol und Resorcin bekannt sind, denn es folgten aufeinander: Tremor, Dysponoe, Salivation, plötzliches Zusammenstürzen, klonische Krämpfe an den Extremitäten, Parese der Nachhand, Betäubung, tonische und tonisch-klonische Krämpfe an den Gliedmassen, Trismus, Opisthotonus, verminderter Cornearreflex, coordinierte Laufbewegungen während des Liegens, Convulsionen, kurzer Collaps und Tod.

Alsbald nach dem Tod des Hundes erhob ich folgenden

Sectionsbefund:

Das Blut war auffallend dunkel, gerann rasch und wurde an der Luft leicht oxydiert. Spectroskopisch und mikroskopisch waren keine Veränderungen nachzuweisen.

In den Brustfellsäcken kein abnormer Inhalt; Brustfell glatt und glänzend. Herz blutleer, Muskulatur der linken Herzkammer etwas verdickt; Herzmuskel braunrot; sowohl Wand- als Klappenendocart intakt, Lungen im Retraktionsstadium. Geringe Mengen von Schaum in der Trachea und den Bronchien.

Die Eingeweide in der Bauchhöhle in normaler Lage; Bauchfell unverändert; Leber leicht geschwollen, blutreich; Milz deutlich geschwollen, hyperämisch; die Fundusportion des dem Zwerchfell anliegenden Magenabschnittes stark hyperämisch; ihre Schleimhaut diffus gerötet und mit punkt- und stecknadelkopfgrossen

Blutungen versehen. Zwölffingerdarm und Leerdarm hyperämisch: an ihren dem Gekrössansatz gegenüber liegenden Anteil ziemlich zahlreiche, streifenförmige Hämorrhagien.

Linke Niere blutreicher als die rechte: Rinden- und Grenzschicht in beiden deutlich hyperämisch. Blase klein, ihre Schleimhaut unverändert, nur 8 ccm dunkelgelber Harn in der Blase.

Gehirnsubstanz von weicher, teigiger Beschaffenheit, auf der Schnittfläche feucht, glänzend.

Skelettmuskulatur etwas dunkler gefärbt.

Nach diesem Befund lautet die pathologisch-anatomische Diagnose: dunkle Verfärbung und leichte Gerinnbarkeit des Blutes. Hyperämie der parenchymatösen Organe, hämorrhagische Gastroenterritis. Hyperthrophie des linken Ventrikels. Mässiges Lungen- und Gehirnödem.

Die in der Blase enthaltenen 8 ccm Harn prüfte ich auf ihren Gehalt an Formaldehyd. Die Reaktionen waren nach

1. Jorissen — negativ,
2. Saure Phenylhydrazinprobe — fraglich,
3. Ferricyankaliumprobe — gering.

Der mit der Oligurie verbundene geringe Formaldehydgehalt des Harns kann mit Rücksicht auf den Ausgang der Vergiftung als ein ungünstiges Moment gelten; der Tierkörper vermochte infolge bald eingetretener Herzschwäche das Hetralin nicht in Form von Formaldehyd und Resorcin in grösserer Menge mit dem Harn auszuscheiden, so dass das Resorcin seine Giftwirkung ganz entfalten konnte.

Von Intoxicationserscheinungen, welche durch Formaldehyd hervorgerufen worden wären, ist auch in der Literatur meines Wissens nichts bekannt: was über die toxischen Eigenschaften des Formaldehyds berichtet wird, bezieht sich auf die wässrige Lösung desselben, auf das Formaldehydum solutum, Formalin oder Formol (37, 44, 49, 50—54). Das durch die Atmung aufgenommene Formaldehydgas ist viel weniger gefährlich; es ruft, wie auch andere reizende Gase, eine entzündliche Reizung der Respirationswege hervor, welche schliesslich zum Erstickungstod führen kann (52). Ebenso gilt Formaldehyd nach zahlreichen experimentellen und klinischen Erfahrungen auch bei einem internen Gebrauch als völlig ungiftig, wenn es, an indifferente Stoffe, wie Amylum, Dextrin, Eiweisskörper, Zucker, Menthol und

Terpene gebunden, dem Körper einverleibt wird. Diese Entdeckung Rosenbergs (47) findet ihre Bestätigung in einem Versuch von Jacobson (36), der einem Hund 10 Tage lang je 3,2 g Formaldehyd in Form der Formaldehydmilchzuckerverbindung verfütterte, ohne das eine Aenderung in dem Befinden des Tieres oder eine abnorme Beschaffenheit auftrat.

Diese von authentischer Quelle mitgeteilten Tatsachen über die Ungiftigkeit des Formaldehyds und die von mir beobachteten Intoxicationserscheinungen bei grösseren Hetralingaben per os lassen keinen Zweifel darüber bestehen, dass die Vergiftungserscheinungen und der bei 0,5 pro kg eingetretene Tod eines Tieres lediglich auf den Resorcincomponenten zurückzuführen ist.

Die Gaben von 0,3 bis 0,5 pro kg Körpergewicht entsprechen etwa der zehnfachen Menge einer grösseren Tagesdosis Hetralin beim Menschen. So gut auch das Hetralin in therapeutischen Dosen ertragen wurde, so kann es doch nach meinen Untersuchungen nicht als ein völlig ungiftiges Mittel, das „frei von schädlichen Nebenwirkungen" (7) sein soll, angesprochen werden. Die Mitteilung Bindermanns (60), dass ein Patient fälschlicherweise an einem Tag 8 g Hetralin in Tablettenform zu sich genommen hat, ohne dass wesentliche Intoxicationserscheinungen auftraten, wurde bisher als ein Beweis für die Ungiftigkeit des Hetralins angeführt. Sie verliert durch meine toxicologischen Versuche über Hetralin, wesentlich an ihrer bisherigen Bedeutung, und es dürften die Versuche Veranlassung sein, das als Harndesinficiens gut bewährte Hetralin in nicht zu hohen Dosen und mit Vorsicht anzuwenden.

Zusammenfassung.

Hetralin stellt eine Kombination von Resorcin und Hexamethylentetramin (Urotropin) dar, es ist Resorcino-Hexamethylentetramin von der Formel $C_6H_{12}N_4 \cdot C_6H_6O_2$ und mit einem Gehalt von etwa 60 % Hexamethylentetramin.

Der chemische Nachweis des Resorcins gelingt in künstlichen Hetralinlösungen direkt mittels Chloroform und Natronlauge, Chlorkalklösung oder Bromwasser u. a. oder indirekt durch Ausschütteln mit Aether. Bei der Tierpassage konnte jedoch Resorcin weder im Harn, noch im Blut oder Kot durch eine dieser Methoden nachgewiesen werden. Im Harn war aus der Zunahme der Aetherschwefelsäuren auf Kosten der Sulfatschwefelsäuren auf das Vorhandensein des Dioxybenzols in Form von resorcinschwefelsaurem Kalium zu schliessen.

Der Resorcinkomponent in Hetralin trägt dazu bei, die Acidität des Harns zu erhöhen und dadurch eine leichtere Formaldehydabspaltung in alkalischem Harn zu ermöglichen.

Der Formaldehyd wird in Hetralinlösungen sehr leicht und energisch abgespalten. Die Abspaltung von Formaldehyd unterbleibt nur bei einer Temparatur von unter 0 ° C; dagegen geht sie schon beim längeren Stehen der Hetralinlösung an der Luft bei einer Temparatur von über 0 ° C vor sich und wird unterstützt durch höhere Wärmegrade, durch Mineralsäuren, Harnsäure und harnsaure Salze. In alkalischen Substraten ist dagegen die Formaldehydabspaltung eine geringe und träge.

Für den Nachweis des Formaldehyds hat sich in künstlichen und natürlichen Flüssigkeiten und namentlich im Destillat der letzteren die Jorissen'sche Reaktion als am zuverlässigsten erwiesen.

Bei internem Hetralingebrauch ist Formaldehyd am deutlichsten im Harn nachzuweisen; er tritt schon nach 10 Minuten im Harn durch Destillation nachweisbar auf und verschwindet bei therapeutischen Gaben von 0,01 bis 0,03 pro kg Körpergewicht erst nach 1—3 mal 24 Stunden wieder völlig; bei einer Hetralindosis von 0,45 pro kg war Formaldehyd sogar 8 mal 24 Stunden im Harn nachweisbar. Daraus ergibt sich eine kumulative Wirkung des Hetralins im Harn.

Die Grösse des Formaldehydgehaltes sowie die Dauer seiner Ausscheidung im Harn ist abhängig von der Menge des in den

Körper eingeführten Hetralins, von der Reaktion und Concentration des Harns.

Die stärkste Formaldehydausscheidung im Harn erfolgt 2—6 Stunden nach der Darreichung des Hetralins,

Auch im Kot, im Blut, in der Milch, in Ascitesflüssigkeit und in allen Organen ist Formaldehyd nach internem Hetralingebrauch nachweisbar.

Ueber die Bedingungen bei der Abspaltung und Ausscheidung des Formaldehyds kann man somit folgende Schlüsse ziehen:

Bei der leichten Zersetzlichkeit des Hetralins, besonders in sauren Flüssigkeiten, wird es nach seiner Aufnahme per os besonders unter dem Einflusse der Magensäure zersetzt und Formaldehyd abgespalten. Dieser wird vom Darm aus resorbiert und teilt sich auf dem Wege der Blut- und Lymphbahnen dem ganzen Körper mit. Dabei wird der Formaldehyd zum grossen Teil, zu Ameisensäure und Kohlensäure oxydiert, teilweise an Eiweiss gebunden. Mit den Sekreten und bei den grossen Hetralingaben zu einem geringen Teil auch mit den Excreten wird der nicht oxydierte Formaldehyd aus dem Körper wieder ausgeschieden. Daher erscheint er namentlich im Harn wieder, wo er sich zunächst an Harnsäure und Harnstoff, unter pathologischen Verhältnissen auch an das Protoplasma der Erreger der ammoniakalischen Harngährung und an Eiweiss bindet und, wenn ein gewisser Sättigungsgrad erreicht ist, auch als freier Formaldehyd auftritt. Ein kleiner Teil des abgespaltenen Urotropins gelangt auch direkt in den Harn, um hier Formaldehyd zu entwickeln.

Diese Vorgänge der Formaldehydentwickelung im Harn werden durch die acidificierende Wirkung des Resorcins auf denselben unterstützt, und damit sind die günstigsten Bedingungen geschaffen, welche das Hetralin bei der Behandlung der bakteriellen Erkrankungen der Harnwege, der harnsauren Diathese und der Phosphaturie so wertvoll erscheinen lassen.

Der desinfektorische Wert des Hetralins hat sich schon bei den Versuchen in vitro als bedeutend erwiesen. In sauren Nährmedien ist er vermöge der stärkeren Formaldehydabspaltung grösser als in alkalischen. Doch ist der noch relativ hohe antiseptische Wert des Hetralins in alkalischen Flüssigkeiten gegenüber dem geringen bei Urotropin als ein bedeutender Vorzug dieses Ersatzmittels vor Urotropin anzusehen. Auch ist bei Zimmer-

temparatur auf alkalischen, neutralen und sauren Nährböden beinahe derselbe antiseptische Effekt wie bei Brutschranktemparatur erzielt worden; durch diese leichte und energische Formaldehydabspaltende Wirkung wird Urotropin ebenfalls von seinem Ersatzmittel übertroffen.

Die antiseptische und kolyseptische Wirkung im Harn nach internem Hetralingebrauch gegenüber Bacterium pyocyaneum tritt schon bei kleinen therapeutischen Tagesgaben (1 bis 2 g) ein; sie ist im sauren Harn wieder etwas stärker als im alkalischen. Die Minimaldosis zur Erreichung einer antiseptischen Wirkung auf Pyocyaneus beträgt

im alkalischen Harn 0,03 pro kg,
im sauren Harn 0,01 pro kg,

und tritt innerhalb 2 bis 6 Stunden post applicationem auf. Dieselben Dosen schützen auch den Harn, wenn er der Luftinfektion ausgesetzt wird, ebenfalls 2 bis 6 Stunden vor der ammonialkalischen Harngährung.

In Ascitesflüssigkeit ist eine antiseptische Wirkung auf Pyocyaneus auch mit hohen therapeutischen Dosen (0,2 pro kg) nicht zu erreichen.

Innerhalb therapeutischer Grenzen wird Hetralin vom Tierkörper ohne besondere Reaktion ertragen: es antwortet in manchen Fällen nur mit einer geringen Erhöhung der Körpertemparatur innerhalb der ersten Stunde; bei höheren Dosen tritt daneben auch eine Erhöhung der Pulz- und Atemfrequenz ein. Grosse Dosen (0,3 pro kg) führen zu sichtbaren Nebenerscheinungen wie Polyurie und Diarrhoe; noch grössere (0,45 pro kg) verursachen Hämaturie, Albuminurie, Oligurie, Depression und Durchfall.

Mit 0,5 kg Körpergewicht ist beim Hund schon die tötliche Dosis erreicht; der Tod erfolgt erfolgt eine Stunde nach Abgabe des Hetralins per os unter den Erscheinungen einer Phenol- oder Resorcinvergiftung.

Literaturverzeichnis.

1. A. Nicolaier, Experimentelles und Klinisches über Urotropin. Zeitschrift für klinische Medicin, 38. Band, 1899, S. 350.
2. Beilstein, Handbuch der organischen Chemie, 3. Auflage 1893, S. 1168 und 1169.
3. R. Ledermann, Ueber Hetralin, ein neues Hexamethylentetraminderivat. Dermatologisches Centralblatt, Nr. 12, 1903.
4. H. Lohnstein, Einige Beobachtungen über Hetralin, ein neues internes Harnantiseptikum. Allgemeine medizinische Central-Zeitung, Nr. 19, 1904.
5. K. Groen, Helmitol und Hetralin, zwei neue Harndesinficientia. Norsk Magazin for Laegevidenskaben, Kristiania, Nr. 5, 1904.
6. B. Goldberg, Wirkungen und Nebenwirkungen neuer Urinantiseptica. Zentralblatt für innere Medizin, Nr. 22, 1904.
7. F. Euler-Rolle, Zur therapeutischen Verwendbarkeit des Hetralins. Medizinische Blätter, Wien, Nr. 26, 1904.
8. G. Helfer, Hetralin bei typhöser Cystitis und der harnsauren Diathese. Medizinische Blätter, Wien, Nr. 26, 1904.
9. L. Ebstein, Ueber Hetralin, ein neues internes Harnantiseptikum. Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1904, Nr. 35.
10. F. Levy, Einige Erfahrungen während der Typhusepidemie in Detmold im Herbst 1904. Medizinische Klinik, 1905, Nr. 9, S. 208.
11. G. Fraenkel, Hetralin, ein wirksames Mittel gegen Cistitis und Pyelitis. Monatschrift für Harnkrankheiten und sexuelle Hygiene, Leipzig, 1904, Heft 6.
12. R. Riegner, Hetralin, ein neues Hexamethylentetraminderivat. Berliner klinisch-therapeutische Wochenschrift, Nr. 27, 1904.
13. Ramon, Fernandez de Caleya y del Amo, Antiseptischer Wert des Hetralins im Vergleich mit dem des Urotropins bei infektiösen Prozessen der Harnwege. Dissertation, Madrid 1905.
14. F. Zernik, Hetralin, Arbeiten aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Berlin etc. Apotheker-Zeitung Nr. 87, 1904, S. 863.
15. C. Jorissen, Association belge des chimistes. Sitzung der Lütticher Abteilung vom 4. April 1897. Chemiker-Zeitung 1897. 290.
16. E. Rimini, Ueber den Nachweis von Formaldehyd in Nahrungsmitteln. Orig. in Annali di Farmacol. 1898, S. 97-101. Annali Farmacoterpia e Chim. 1898, S. 17. Ref. im Chem. Central-Blatt 1898. Bd. I, Nr. 21, S. 1152.

17. C. Arnold und C. Mentzel, Ein empfindliches Verfahren zum Nachweise von Formaldehyd. Zeitschrift für Untersuchung von Nahrungs- und Genussmittel 1902, 5, S. 353—356. Ref. Chem. Central-Blatt 1902, Bd. I, Nr. 21, S. 1251/52.
18. C. Arnold und C. Mentzel, Ueber den raschen Nachweis von Formaldehyd in Lebensmitteln. Chemiker-Zeitung, 1902, Nr. 26, S. 246/47. Ref. Chemisches Central-Blatt 1902, Bd. I, Nr. 18, S. 1076.
19. P. Nehls, Ueber Citarin, Aus der Klinik für kleinere Haustiere, Stuttgart. Inaugural-Dissertation, Giessen, 1905.
20. Lebbin, Zum Nachweis des Formaldehyds. Pharmaceutische Zeitung Nr. 2, 1897.
21. Tollens, B., Ueber einige Derivate des Formaldehyds. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 17, S. 653.
22. Raddés Internationale Farbenskala.
23. E. Baumann, Ueber Sulfosäuren im Harn. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. IX, S. 54.
24. Hoppe-Seyler, Pflügers Archiv für Physiologie, Bd. 5, S. 470.
25. Müller und Ebstein, Virchow' Archiv, L. XII, S. 554.
26. E. Baumann, Ueber die Kresylschwefelsäure. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. IX, S. 969 u. 1389 und Pflügers Archiv Bd. XIII, S. 285, 1876.
27. derselbe, Ueber die Bestimmung der Schwefelsäure im Harn. Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. I, S. 70.
28. E. Baumann u. E. Herter, Ueber die Synthese von Aetherschwefelsäuren und das Verhalten einiger aromatischer Substanzen im Tierkörper. Zeitschrift für physiol. Chemi, Bd. I, S. 244.
29. J. Schomacker, Beitrag zum ferensisch-chemischen Nachweis des Resorcin und Brenzkatechin im Tierkörper. Inaugural-Dissertation, Dorpat 1886.
30. G. Dragendorff, Ermittlung von Giften. St. Petersburg, 1876.
31. E. Spaeth, Die chemische und mikroskopische Untersuchung des Harnes. Leipzig 1903.
32. E. Baumann, Ueber die Aetherschwefelsäuren der Phenole. Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. II, 335.
33. Jaffé und C. Strzyzowski, Ueber den Einfluss des Formaldehyds auf den Nachweis der normalen und pathologischen Harnbestandteile. Therapie der Gegenwart, Nr. 4, 1902, S. 158.
34. J. Andeer, Studien über Resorcin, Würzburg 1880.
35. derselbe, Medizinisches Central-Blatt, 1880, Nr. 27.
36. Jacobson, Ueber interne Wirkung von Formaldehyd. 76. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Breslau. Ref. Berliner klinische Wochenschrift, 1904, S. 1114 und Therapie der Gegenwart, 1904, S. 502.
37. J. Pohl, Ueber die Oxydation des Methyl- und Aethylalkohols im Tierkörper. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, 31. Bd., 1893, S. 281.
38. K. Weber, Ueber die Einwirkung von Formaldehyd auf einige mehrwertige Alkohole und Säuren. Inauguraldissertation, Berlin 1897.

39. B. Tollens, K. Weber, R. Pott, Ueber Verbindungen von Formaldehyd und Harnsäure. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 30, S. 2514/15.
40. B. Tollens und K. Weber, Ueber die Einwirkung von Formaldehyd auf Harnsäure. Annalen der Chemie, Bd. 299, S. 340.
41. A. Nicolaier, Ueber Methylenhippursäure. Therapeutische Monatshefte, H. 1, 1905, S. 7.
42. Auerbach und H. Barschall, Verhalten von Formaldehydlösungen bei der Destillation. Süddeutsche Apotheker-Zeitung, 1905. Nr. 88.
43. F. Judd, Nachweis von Formaldehyd, Neueste Erfindungen und Erfahrungen. Ref. Süddeutsche Apotheker-Zeitung, 1905.
44. R. Kobert, Lehrbuch der Intoxicationen, Stuttgart 1904.
45. Hagers Handbuch der pharmaceutischen Praxis, Berlin 1902.
46. E. Seligmann, Das Verhalten der Kuhmilch zu fuchsinschwefliger Säure und ein Nachweis des Formalins in der Milch. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, 49. Bd., 2. Heft, S. 325.
47. P. Rosenberg, Ueber den Wert des Formaldehyds für interne Therapie. Die Therapie der Gegenwart, 1905, 2. Heft. S. 55.
48. derselbe, Nachweis freien Formaldehyds im Blute nach interner Anwendung. Die Therapie der Gegenwart, 1905, 4. Heft, S. 160.
49. Pottewin, Berliner klinische Wochenschrift, 1892, Nr. 30.
50. Brusset, Contribution à l'étude du formol, Paris 1896.
51. Bergonzoli, Deutsche medizinische Wochenschrift, 1894, L. 10.
52. Benedicenti, Archiv für Anatomie und Physiologie, 1897, 3. und 4. Heft.
53. Fiegel, Ueber Formaldehyd in desinfektorischer und toxischer Beziehung. Inaugural-Dissertation, Berlin 1898.
54. Strzyzowski, Therapeutische Monatshefte, 1904, S. 256.
55. Impens, Zur Harndesinfection. Monatsbericht für Urologie, Bd. VIII, Heft 5, 1903.
56. U. Mosso und Paoletti, Ref. in The British Medical, 8. Februar 1896, S. 24.
57. J. Tereg und C. Arnold, Tierärztliches Arzneibuch, Teil III, Toxikologie, Berlin 1892.
58. F. Friedberger und E. Fröhner, Lehrbuch der speciellen Pathologie und Therapie der Haustiere, 5. Auflage, I. Band, Stuttgart 1900.
59. S. Kaiser, Eine lebenbedrohende Intoxication bei Anwendung 50 % Resorcinpaste. Berliner Klinische Wochenschrift, Nr. 33, 1905.
60. J. Bindermann, Helmitol, Hetralin und Acidum nitricum bei Gonorrhoe und Cystitis. Ref. in Medizinische Blätter, Nr. 28, Wien, 1904.

Lebenslauf.

Ich, Christoph Wilhelm Fries, wurde am 8. März 1881 zu Wertheim a. Main geboren.

Ich besuchte in meiner Vaterstadt die Volksschule und das Gymnasium, wo ich im Juli 1900 das Maturitätsexamen bestand. Darauf studierte ich vom Oktober 1900 bis Juli 1902 an der K. Tierärztlichen Hochschule zu Stuttgart, wo ich im April 1902 die naturwissenschaftliche Fachprüfung ablegte. In meinem 5. Semester, W. S. 1902/03, studierte ich an der K. Tierärztlichen Hochschule zu Berlin, im 6. und 7. Semester wieder in Stuttgart und erlangte dort im Juli 1904 die Approbation als Tierarzt im Gebiete des Deutschen Reiches.

In der Zeit vom Oktober 1904 bis November 1905 genügte ich der Militärpflicht und nahm darauf die Stelle eines Assistenten bei dem Gr. Bezirkstierarzt in Schwetzingen an.